ENTOMOLOGY LIBRARY
4 APR 1962
C.S.A. 121

REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Inst. Med. trop. São Paulo, vol. 3, n.° 2, p. 51 - 106 ★ Março / Abril, 1961

O caminho certo na terapia da amebíase...

DIANTIL

(Clorbetamida)

Amebicida não-metálico...

de ação intensa...

com doses reduzidas

"Diantil é um amebicida sintético não-metálico que se caracteriza por grande atividade e baixa toxicidade". *E. W. Dennis e D. A. Berberian, Antibiotics & Chemotherapy, 6:554, maio, 1954.*

"O que mais sobreleva notar, no tratamento com Diantil, é sua perfeita tolerância." *D. T. Lucena e R. J. Marques, Revista Brasileira de Medicina, vol. XIII, n.º 11, nov. 1955.*

Comprimidos contendo 0,5 g de N-(2,4-diclorobenzil)-N-(2-hidroxietil) dicloroacetamida. Caixas de 24

DIANTIL é um produto **WINTHROP**

Marca registrada

WINTHROP

Distribuidores: The Sydney Ross Co., Av. Rio Branco, 251, 11.º and., Rio de Janeiro

D 11 - 60

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):51-60, março-abril 1961

CDU 576.8.093
:576.895.132.2
:616.995.132.2-078

CONDIÇÕES QUE INFLUEM NA EXTRAÇÃO DE LARVAS DO *STRONGYLOIDES STERCORALIS* DAS FEZES PELO MÉTODO DE LOOSS-BAERMANN MODIFICADO (TÉCNICA DO PIRES)

Francisco Ferriolli Filho [1]

RESUMO

O autor estuda a influência de diversos fatôres na extração das larvas do *Strongyloides stercoralis* das fezes, empregando uma variante do método de Looss-Baermann: a técnica do pires e chega às seguintes conclusões: a) a extração deve ser feita com fezes frescas, pois a manutenção destas em temperatura ambiente (cêrca de 25°C), por 18 horas, faz baixar significativamente o número de larvas extraídas; a conservação em geladeira (1 a 5°C) faz cair ainda mais o número de larvas e negativa certa proporção de casos positivos; b) a quantidade de fezes a ser usada é de aproximadamente 10 g, pois o uso de menores quantidades implica em menor número de larvas para a extração e pode dar resultados negativos em casos comprovadamente positivos, mas pobres; c) a duração da extração deve ser de 60 minutos, pois, nestas condições, em 97,83% das amostras sabidamente positivas as larvas são encontradas; nos casos suspeitos a extração deve ser levada até o 120.° minuto, prazo dentro do qual 100% dos casos positivos são confirmados; d) a temperatura inicial deve ser de 45°C, cuidando-se de mantê-la acima de 40°C sempre que possível; e) o uso de luz artificial não melhora as condições de extração, embora as larvas rabditóides sejam dotadas de fototropismo positivo.

INTRODUÇÃO

Embora se encontrem dispersos na literatura alguns dados a respeito de fatôres que influem na extração das larvas do *Strongyloides stercoralis* das fezes pelas técnicas que se baseiam no hidrotropismo positivo destas larvas, não há estudos sistematizados a respeito.

No presente trabalho relatamos os resultados de nossas investigações sôbre a influência das seguintes condições principais: conservação de fezes destinadas à pesquisa de larvas, duração da extração e ação do calor e da luz. Empregamos, para a extração das larvas, a técnica do pires que descrevemos em trabalho anterior [8].

I — COLHEITA E CONSERVAÇÃO DAS FEZES

As fezes destinadas à pesquisa do *S. stercoralis*, pela extração de larvas, devem ser emitidas espontâneamente. Se bem que a ministração de purgativo salino possa aumentar o número de larvas presentes (pela irritação da parede intestinal que provoca), ela é contra-indicada porque as fezes líquidas não se prestam bem para a extração; partículas fecais pequenas e substâncias coloridas solúveis atravessam a tela metálica e produzem uma turvação que impede ou dificulta a visibilidade das larvas.

As fezes devem ser recolhidas em recipiente limpo; latinhas de pomada ou frascos de bôca larga com tampa plástica de pressão

Fac. Medicina de Ribeirão Prêto, da Univ. São Paulo — Depart. de Parasitologia (Prof. M. P. Barretto).
(1) Assistente.

e com capacidade de 20-30 g são adequados, sendo êstes os mais indicados.

Uma vez colhidas, as fezes devem ser enviadas o mais depressa possível ao laboratório e examinadas. Isto, porém, nem sempre é viável principalmente no curso de inquéritos coprológicos, quando o ritmo de colheita excede a capacidade de exame de laboratório. O mesmo sucede quando a colheita é feita em lugares distantes do laboratório e a remessa a êste leva muitas horas. Nestas condições, em geral se aconselha conservar as fezes em geladeira ou acondicioná-las em gêlo. Outras vêzes acontece que as fezes colhidas à tarda pelos pacientes chegam ao laboratório ao fim do expediente; havendo suspeita da presença de trofozoítas costuma-se fazer um esfregaço e fixá-lo, e conservar as fezes em geladeira para examiná-las no dia seguinte. O hábito de conservar fezes resfriadas é tão generalizado que os clínicos, quando pedem exames de fezes, ou os laboratoristas, quando recebem tais pedidos, dão instruções aos pacientes no sentido de, quando possível, conservar as fezes em geladeira, se a sua remessa ao laboratório não puder ser feita logo após a emissão.

Resultados negativos obtidos com material sabidamente positivo e conservado de um dia para outro, nos causaram certa estranheza e nos levaram a investigar o assunto.

Revendo a literatura a nosso dispor encontramos observações análogas feitas por CORDI & OTTO [3] que verificaram que fezes, contendo numerosas larvas de *S. stercoralis*, se negativavam quando conservadas em geladeira durante 12 a 15 horas. Além destas, deparamos com algumas outras referências à ação do frio sôbre as larvas rabditóides do *S. stercoralis*. Assim é que LEUCKART *apud* [13] já afirmara que o frio mata estas larvas. KREIS [12] trabalhando com fezes de macacos *Ateles* infestados, verificou a morte das larvas após a permanência em geladeira durante dois dias. CORDI & OTTO [3] em experiências com larvas rabditóides do *S. fülleborni*, extraídas de culturas pelo aparelho de Baermann e colocadas em geladeira, verificaram que: a) após 9 horas de permanência nestas condições, 15% perdem a sua atividade; b) mantidas em geladeira durante 25 horas apenas 18% conservam pequena atividade; c) os movimentos cessam completamente e as larvas não mais se recuperam quando trazidas à temperatura ambiente, se permaneceram em geladeira durante 69 horas. Em face dêstes resultados e das observações feitas com fezes humanas, atrás citadas, concluem que não se deve aceitar como negativo para *S. stercoralis* um exame de fezes que tenham permanecido em geladeira por mais de 10 horas.

GAILLARD [11] verificou que, em coprocultura com carvão, o desenvolvimento das larvas rabditóides se paralisa a 8°C. Elas podem permanecer vivas durante até 8 dias, mas a partir do 4.° dia a metade já se apresenta morta. Após o 8.° dia, aquelas que ainda se mantêm vivas não se recuperam quando trazidas à temperatura de 30°C. Resfriada a 2°C larva alguma consegue sobreviver além de 5 horas.

Tendo em vista que as fezes colhidas à tarde e enviadas ao laboratório no fim do período de atividade dêste, devem ser guardadas para exame a ser feito no dia seguinte, e considerando que entre o momento da colheita e o do exame decorrem, nestas condições, 15 a 18 horas, resolvemos estudar a influência da conservação em geladeira, durante êste lapso de tempo. Em um certo número de casos estendemos o período de observação por 24 horas.

Nossas experiências foram feitas da seguinte maneira: cada amostra de fezes recém-emitidas era homogenizada e delas retirávamos 5 porções de aproximadamente 10 g. Uma porção era submetida imediatamente à extração; outras duas porções eram conservadas à temperatura ambiente, durante 18 a 24 horas, respectivamente, e após êstes prazos, submetidas à extração; finalmente as outras duas porções eram conservadas em geladeira a 1-5°C durante os mesmos prazos e em seguida submetidas à extração. Durante os exames, as larvas presentes eram contadas. A temperatura inicial da água usada para a extração era de 45°C, a duração desta foi de 60 minutos e a temperatura do laboratório durante a

série de experiências, variou pouco, em tôrno de 25°C. Tôdas as amostras empregadas eram de fezes recém-colhidas no laboratório, salvo alguns casos em que elas foram colhidas em casa e enviadas imediatamente ao laboratório, não havendo decorrido mais de 30 minutos entre a colheita e o início do primeiro exame.

Os resultados obtidos com 22 amostras são apresentados nos Quadros I e II.

QUADRO I

Influência da conservação de fezes, em geladeira ou à temperatura ambiente, nos resultados da extração de larvas pela técnica do pires, expressos em número de larvas extraídas.

Caso nº	Número de larvas extraídas das fezes				
	Exame inicial	Após 18 horas		Após 24 horas	
		temperatura ambiente	em geladeira	temperatura ambiente	em geladeira
1	6	2	3	...	...
2	8	3	1	...	...
3	13	8	—	...	...
4	37	32	26	36	12
5	2	1	—	...	...
6	49	42	18	31	8
7	76	85	8	72	1
8	94	67	5	41	1
9	22	18	5	31	2
10	37	22	11	28	14
11	2	1	—	...	...
12	34	36	—	...	...
13	37	27	8	...	...
14	86	42	6	94	1
15	38	5	—	29	—
16	24	8	—	6	1
17	73	41	2	36	—
18	52	36	13	49	8
19	24	26	8	22	6
20	106	97	33	87	17
21	81	32	2	...	...
22	2	7	2	...	...

QUADRO II

Influência da conservação das fezes, em temperatura ambiente e na geladeira, medida pela positividade do exame para extração de larvas.

Condições		Nº de casos	Com exame positivo	
			Nº	Percentagem
Após 18 horas	Temperatura ambiente	22	22	100,00
	Geladeira	22	16	73,73
Após 24 horas	Temperatura ambiente	13	13	100,00
	Geladeira	13	11	84,61

O teste de Wilcoxon aplicado a êstes dados mostra que, conquanto nenhum exame tenha sido negativo, houve uma redução significativa no número de larvas isoladas quando as fezes foram mantidas à temperatura ambiente por 18 horas. Redução muito maior ocorreu no número de larvas extraídas das fezes conservadas em geladeira durante êsse mesmo espaço de tempo. Além disso, das 22 amostras conservadas em geladeira, 6 deram resultados negativos, ocorrência não verificada entre as conservadas em temperatura ambiente.

Nestas condições quando fôr absolutamente impossível o exame no mesmo dia de sua emissão, o material para pesquisa de larvas de *S. stercoralis* pode ser conservado em temperatura ambiente mas nunca em geladeira.

II — VOLUME DO MATERIAL A EXAMINAR

Em seu trabalho inicial Brug [2] aconselhava empregar 10 ml de fezes para a extração de largas. Moraes [16] e Coutinho & col.[4] recomendam 8 a 10 g de fezes. Rugai & col.[17] utilizam-se de todo o conteúdo das latinhas em que se colhe o material, não especificando a quantidade de fezes.

Em tôdas as nossas observações relatadas no presente trabalho usamos sempre cêrca de 8-10 g de fezes. Nos exames de rotina do laboratório temos feito a extração com quantidades de fezes menores, quando o material recebido é insuficiente, mas os resultados obtidos nestas condições não foram tomados em consideração neste trabalho, pois mais de uma vez temos verificado que o uso de pequenas quantidades de fezes, quando o número de larvas é reduzido, tem dado resultados negativos, isto sucedendo em fezes comprovadamente positivas. Aliás, isto é de se esperar, pois a probabilidade de encontro de larvas nestas condições é menor.

III — DURAÇÃO DA EXTRAÇÃO

O tempo durante o qual as fezes devem permanecer em contato com a água varia segundo os autores. Brug [2] recomenda que a extração das larvas das fezes deve durar de 60 a 120 minutos.

Sandground [17], usando cultura de fezes feitas com carvão animal, obtinha a extração das larvas em espaço de tempo pouco superior a uma hora. Lee [13] aconselha a fazer a extração em estufa a 37°C durante 30 minutos. Moraes [15] recomenda deixar as fezes em contato com a água durante 60 a 90 minutos. Coutinho & col.[4] mandam esperar 60 minutos. Rugai & col.[16] recomendam que a colheita das larvas no fundo do cálice deva ser feita após 90 minutos de extração. Nas observações que relatamos em trabalho anterior (Ferriolli Filho [6]) deixávamos as fezes em contato com a água durante 60 minutos.

Mas já Baermann [1] assinalava que as larvas de nematóides migram da terra para a água nos primeiros 15 minutos e que a extração se completa em 60 minutos.

É evidente que quanto mais prolongada fôr a extração, tanto maiores serão as oportunidades para uma larva, situada no meio da amostra fecal examinada, migrar para a água. Entretanto, na prática, é conveniente limitar êste tempo sem prejudicar os resultados, e isto por duas razões principais: a) os resultados dos exames serão fornecidos mais ràpidamente, o que, em certos casos, é vantajoso; b) evita-se a evaporação da água no pires, o que acontece em climas extremamente secos, acarretando a necessidade de se adicionar mais água.

Para estudar o fator tempo de espera dois métodos poderiam ser utilizados: a) submeter porções das mesmas fezes homogenizadas, a extrações durante tempos variáveis; b) submeter a mesma porção de fezes a uma extração realizada por etapas sucessivas e de duração determinada. Após experiências preliminares, optamos pelo segundo método, que nos pareceu mais adequado por eliminar eventuais variações conseqüentes à falta da uniformidade na distribuição das larvas em porções diferentes das mesmas fezes, ainda que prèviamente homogenizadas.

Eis nossa maneira de proceder: dada amostra de fezes era submetida à extração durante 30 minutos em um primeiro pires com água; após êste prazo, a peneira metálica era transferida para um segundo pires com água, aí permanecendo durante mais 30 minutos. A operação era repetida em

intervalos de 30 minutos, tantas vêzes quantas fôssem necessárias. Após cada extração parcial, o pires em que ela se efetuou era examinado e, se o exame fôsse positivo, a operação era interrompida. Releva notar que cada extração parcial era realizada nas mesmas condições de temperatura e iluminação, utilizando-se água aquecida a 40-45°C e luz natural difusa.

Assim procedendo, examinamos 108 amostras de fezes de casos suspeitos ou de indivíduos sabidamente portadores de estrongiloidíase. Os resultados são apresentados no Quadro III.

QUADRO III

Influência da duração da extração na positividade dos resultados, observada no exame de 108 amostras de fezes de pacientes suspeitos ou sabidamente com estrongiloidíase.

Duração	Nº de casos positivos	Percentagem sôbre o total de positivos	Percentagem sôbre o total de examinados
30 minutos	43	93,48	39,81
31- 60 minutos	2	4,35	1,85
61- 90 minutos	—	—	—
91-120 minutos	1	2,17	0,93
Total	46	100,00	42,59

Devemos assinalar que na série de amostras estudadas nenhuma se mostrou positiva após 120 minutos, ainda que houvesse suspeita de estrongiloidíase. Por outro lado, em casos sabidamente positivos, a extração sempre revelou larvas dentro dos primeiros 60 minutos.

Como vemos, a positividade se manifesta dentro dos primeiros 30 minutos na grande maioria dos casos, mas, se tomarmos êste limite como tempo de espera para o exame, o risco de diagnósticos negativos falsos é de 6,52%. Após 60 minutos aquêle risco cai para 2,17% apenas. A orientação prática a seguir deve ser a seguinte: se se tiver pressa em fornecer resultados, deve-se examinar o material após 30 minutos de extração; caso seja negativo, nova extração de 30 minutos deve ser feita. Para a generalidade dos casos a duração de 60 minutos é suficiente. Nos casos em que houver suspeita de estrongiloidíase novo exame deve ser feito após 120 minutos, findos os quais o material deve ser dado como negativo e repetido em outro dia se houver indicação.

IV — INFLUÊNCIA DO CALOR

Quando propôs seu método para a extração das larvas de ancilostomídeos de cultura de fezes, Looss [14] recomendou que a operação fôsse realizada em estufa a 36°C. Brug [2], para a extração de larvas do *S. stercoralis* das fezes, empregou água tépida, sem especificar a temperatura. Sandground [17], utilizando o aparelho de Baermann para a extração de larvas do *S. stercoralis* a partir de culturas, empregou água a 40-42°C assinalando que o calor ativa as larvas. Lee [13], valendo-se da recomendação de Looss [14], opera em estufa a 37°C; Moraes [15], Coutinho & col.[4], Rugai & col.[16] e outros, usam água a 40-42°C.

O emprêgo da água aquecida se justifica, segundo os autores, em virtude do termotropismo positivo de que as larvas do *S. stercoralis* são dotadas. Segundo Sandground [17], o calor torna as larvas mais ativas, fazendo com que elas mais ràpidamente procurem a água. O termotropismo positivo das larvas filariformes do *S. stercoralis* foi bem estudado principalmente por Fülle-

BORN [9, 10], mas não encontramos um estudo do mesmo fenômeno efetuado com as larvas rabditóides, que são as que se encontram nas fezes recentemente emitidas. Investigações que realizamos a respeito e que constituem objeto de outro trabalho (FERRIOLLI FILHO [7]) mostram que estas larvas são também dotadas de termotropismo positivo.

Diante disto procuramos verificar se o aproveitamento dêste tropismo melhoraria as condições de extração das larvas das fezes. Para isto submetemos 43 amostras de fezes de indivíduos suspeitos ou portadores de estrongiloidíase ao tratamento seguinte: de cada amostra, depois de homogeneizada, retiramos duas porções de aproximadamente 10 g e as submetemos à extração, uma em água mantida no pires à temperatura do laboratório, que variou durante os exames de 25 a 30°C, e a outra em água mantida a temperaturas superiores a 37°C e inferiores a 45°C que era a inicial; para conseguir estas temperaturas empregamos uma caixa de madeira aquecida internamente por lâmpadas elétricas e com a tampa dotada de orifícios aos quais se adaptavam bem os pires.

Os resultados obtidos são apresentados em detalhes no Quadro IV e sumariados no Quadro V.

QUADRO IV

Influência do calor sôbre a extração das larvas de *S. stercoralis*: número de larvas obtidas a frio e a quente, em cada um dos casos examinados.

Caso nº	Nº de larvas obtidas		Caso nº	Nº de larvas obtidas		Caso nº	Nº de larvas obtidas	
	a frio	a quente		a frio	a quente		a frio	a quente
1	8	12	16	48	35	31	36	76
2	25	25	17	4	4	32	74	123
3	37	41	18	2	3	33	2	5
4	1	1	19	21	18	34	—	—
5	3	2	20	—	—	35	17	39
6	—	—	21	—	—	36	3	5
7	19	17	22	26	32	37	—	—
8	—	2	23	—	—	38	13	22
9	23	~	24	~	~	39	—	2
10	8	54	25	—	—	40	—	—
11	2	2	26	41	47	41	—	—
12	4	6	27	88	82	42	35	37
13	27	26	28	—	2	43	—	—
14	14	13	29	42	37			
15	29	72	30	32	49			

OBS. — ~ : larvas muito numerosas e incontáveis.

QUADRO V

Influência do calor sôbre a extração das larvas de *S. stercoralis*: positividade em temperatura ambiente e a quente, observada em 43 casos examinados.

Temperatura (°C)	Nº de positivos	Percentagem sôbre o total de positivos	Percentagem sôbre o total de examinados
37-42	33	100,00	76,74
25-30	30	90,90	69,76
Só a 37-42	3	9,09	6,97
Só a 25-30	—	—	—
Ambas temperaturas	30	90,90	69,76
Total	33	...	76,74

O exame dêstes quadros mostra que não há diferenças significativas entre as proporções de casos positivos usando-se água à temperatura ambiente ou aquecida, embora em três casos só tenhamos observado larvas quando a extração foi feita nesta última condição.

Se tomarmos em consideração o número de larvas obtidas em cada caso e aplicarmos a êstes dados o teste de Wilcoxon, verificamos que, empregando água aquecida, obtêm-se números significativamente maiores de larvas do que quando se usa água à temperatura ambiente. Por isto, recomendamos o uso de água aquecida a 40-45°C na extração pela técnica do pires.

V — INFLUÊNCIA DA LUZ

Embora encontremos dados referentes à influência da luz sôbre as larvas filariformes (Darling [5], Fülleborn [9]), nenhum estudo sôbre larvas rabditóides existe na literatura de que pudemos dispor. Investigações que serão relatadas em outro trabalho (Ferriolli Filho [7]) puseram em evidência a existência dêste tropismo.

Procuramos, por isto, associar o fototropismo, à ação atrativa exercida pela água e pelo calor; ainda que soubéssemos que as radiações luminosas não poderiam penetrar na massa fecal, quisemos verificar se a luz, atuando sôbre as larvas situadas na periferia das fezes ou já fora delas, melhoraria as condições de extração, uma vez que Darling [5] refere ser possível isolar larvas infestantes mediante a atração pela luz elétrica.

Utilizamos, então, a caixa de madeira aquecida que descrevemos ao estudar o termotropismo, cobrindo alguns dos orifícios com papel prêto para impedir a passagem das radiações luminosas, e deixando outros abertos. A água do pires onde se deveria dar a extração das larvas foi mantida, em tôdas as experiências, em temperatura acima de 37°C, mas abaixo de 45°C. Cada amostra de fezes a ser estudada era homogeneizada e, dividida em duas partes iguais (10 g cada), sendo uma porção submetida à extração à luz e outra sem luz.

Examinamos assim 77 amostras de fezes de indivíduos suspeitos ou portadores de estrongiloidíase. Os resultados são apresentados em detalhes no Quadro VI e resumidos no Quadro VII.

O exame dêstes quadros mostra que, embora as larvas rabditóides do *S. stercoralis* sejam dotadas de fototropismo positivo, a luz não exerceu ação favorável durante a extração. A quantidade de larvas extraídas com e sem luz foi aproximadamente a mesma. Por outro lado, todos os casos positivos revelados pela extração com luz, o foram

QUADRO VI

Influência da luz sôbre a extração das larvas de *S. stercoralis*: positividade registrada com e sem luz, em 77 casos examinados.

Condições	Exames positivos		
	Nº absoluto	Percentagem sôbre o total de positivos	Percentagem sôbre o total de examinados
Com luz	30	88,24	38,96
Sem luz	34	100,00	44,16
Só com luz	—	—	—
Só sem luz	4	11,75	5,19
Com e sem luz	30	88,24	38,96
Total	34	...	44,16

QUADRO VII

Influência da luz sôbre a extração de larvas do *S. stercoralis*: quantidade de larvas obtidas com e sem luz, em 77 casos examinados.

Caso nº	Extração de larvas		Caso nº	Extração de larvas		Caso nº	Extração de larvas	
	com luz	sem luz		com luz	sem luz		com luz	sem luz
1	—	—	27	—	—	53	—	—
2	—	—	28	+ + + +	+ + + +	54	+ +	+ +
3	—	+	29	—	—	55	+	+
4	—	—	30	—	—	56	+ +	+ +
5	—	—	31	—	—	57	—	—
6	—	—	32	+ +	+ +	58	—	+
7	—	—	33	—	—	59	—	—
8	+ + +	+ + +	34	+ + +	+ + +	60	—	—
9	+ + +	+ + +	35	—	—	61	+ +	+ +
10	—	—	36	—	—	62	—	—
11	+	+ +	37	—	—	63	—	—
12	—	—	38	—	—	64	—	—
13	—	—	39	+ +	+	65	+	+
14	—	+	40	+	+	66	—	—
15	+ +	+ + +	41	+	+	67	—	—
16	—	—	42	—	—	68	—	—
17	—	—	43	+	+	69	+ + +	+ + +
18	+	+	44	—	—	70	+ +	+ +
19	+ +	+	45	—	+	71	+ + +	+ + +
20	—	—	46	—	—	72	+ + +	+ + +
21	—	—	47	+ + +	+ + +	73	—	—
22	—	—	48	+ + + +	+ + + +	74	+	+
23	+ +	+ +	49	—	—	75	+ + + +	+ + + +
24	—	—	50	—	—	76	+ +	+ + +
25	—	—	51	—	—	77	+ +	+ +
26	—	—	52	+	+			

OBS. — +: 1 a 5 larvas;
++: 6 a 10 larvas;
+++: 11 a 30 larvas;
++++: mais de 30 larvas.

também quando não usamos luz e a extração sem luz revelou, em adição, mais quatro casos. As percentagens de positividade da extração com e sem luz foram, respectivamente, 88,24 e 100,00, sendo a diferença significativa.

SUMMARY

Studies on the conditions influencing the extraction of larvae of Strongyloides stercoralis *from stools by the modified Looss-Baermann method: the dish technique.*

The influence of various factors in the recovering of *Strongyloides stercoralis* larvae from stools was investigated. A modification of Looss-Baermann's method, that is, the dish technique FERRIOLLI FILHO [8], was used.

From the results obtained, which are reported in detail and discussed, the following conclusions may be drawn:

a) Recently passed stools must be used because, when the specimens are kept at room temperature (circa 25°C) for 18 hours, the number of larvae recovered is significantly smaller; on the other hand, keeping the specimens in the ice-box (1-5°C) leads to a still larger reduction of the number of larvae recovered, as well as to the negativation of a significant proportion of positive stools.

b) Approximately 10 g. of feces should be subject to extraction, since the use of smaller amounts may give negative results in positive cases where the number of larvae present in stools is small.

c) The extraction must last at least 60 minutes; in this condition, larvae were recovered from 97.83 per cent of known positive specimens; in suspect patients the extraction may be carried out up to the 120th minute; within this period of time larvae were recovered from one hundred per cent of known positive specimens.

d) The initial temperature of the water in which the extraction is carried out should be 45°C; whenever possible the temperature of the water is to be kept above 40°C.

e) Althought rhabditoid larvae have a positive phototropism, the use of artificial light did not improve the extraction. On the contrary, a significant proportion of specimens became negative when an intense illumination was used. other conditions remaining constant.

REFERÊNCIAS

1. BAERMANN, G. — Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. Mededeel. H. Geneesk. Lab. te Weltvreden, Festbundel, Batavia, p. 41-47, 1917.

2. BRUG, S. L. — De methode van Baermann toegepast op het onderzoek der faeces op mijnwormeieren. Gen. Tjdschr. Ned. Indië **61**:565-573, 1921.

3. CORDI, J. M. & OTTO, G. F. — The effect of various temperatures on the eggs and larvae of Strongyloides. Amer. J. Hyg. **19**: 103-114, 1934.

4. COUTINHO, J. O.; CAMPOS, R. & AMATO *Neto,* V. — Nota sôbre diagnóstico e prelência da estrongiloidose em São Paulo. Rev. clín. São Paulo **27**:1-10, 1951.

5. DARLING, S. T. — The intestinal worms of 300 insane patients detected by special methods. Bull. Soc. Path. éxot. **4**:334-341, 1911.

6. FERRIOLLI *Filho,* F. — Diagnóstico da estrongiloidíase: modificações do método de Baermann-Moraes. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo **1**:138-140, 1959.

7. FERRIOLLI *Filho,* F. — Estudo de tropismo das larvas rabditóides de *Strongyloides stercoralis.* [no prelo]

8. FERRIOLLI *Filho,* F. — Nova modificação do método de extração de Looss-Baermann para a pesquisa de larvas do *Strongyloides stercoralis* nas fezes: técnica do pires. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo **3**: 9-14, 1961.

9. FÜLLEBORN, F. — Ueber die Taxen und das sonstige Verhalten der infektionsfähigen Larven von Strongyloides und Ancylostoma. II. Mitteilung. Zentralbl. Bakt., I. Abt., Originale **126**:161-180, 1932.

10. FÜLLEBORN, F. — Ueber "Taxis" (Tropismus) bei Strongyloides und Ankylostomum Larven. Arch. Schiffs- & Tropen-Hyg. **28**:144-165, 1924.

11. GALLIARD, H. — Recherches sur l'infestation expérimentale a *Strongyloides stercoralis* au Tonkin. XIII. Action des facteurs physiques et chimiques sur le développement exogène. Ann. Parasitol. hum. & comp. **26**:201-227, 1951.

12. KREIS, H. A. — Studies on the genus *Strongyloides* (Nematodes). Amer. J. Hyg. **16**: 450-491, 1932.

13. LEE, C. V. — Some observations on *Strongyloides stercoralis*. Arch. Schiffs- & Tropen-Hyg. **34**:262-274, 1930.

14. LOOSS, A. — The anatomy and life-history of *Agchilostoma duodenale* Dub. Rec. Egypt. Govt. School Med. **4**:159-613, 1911.

15. MORAES, R. G. — Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrongiloidose no Brasil. Rev. S.E.S.P. **1**: 507-624, 1948.

16. RUGAI, E.; MATTOS, T. & BRISOLA, A. P. — Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificação do método de Baermann. Rev. Inst. Adolfo Lutz **14**:1-8, 1954.

17. SANDGROUND, J. H. — Some observations on the life-cycle, methods of diagnosis and incidence of *Strongyloides stercoralis* in the tropics. Ann. Rep. United Fruit Co. med. Dept. **14**:240-245, 1925.

Recebido para publicação em 20 dezembro 1960.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):61-70, março-abril 1961

CDU 576.893.161.13
:599(81.1)

TRIPANOSOMÍDEOS DE MAMÍFEROS DA REGIÃO AMAZÔNICA

II. Tripanosomas de macacos da Zona do Salgado, Estado do Pará

Leonidas M. Deane [1] e R. G. Damasceno [2]

RESUMO

Examinando o sangue de macacos e outros mamíferos silvestres da Zona do Salgado, Estado do Pará, para pesquisa de plasmódios, os autores não encontraram êstes esporozoários, porém constataram a presença dos seguintes tripanosomídeos: *Trypanosoma saimirii* Rodhain, 1941, no "macaco-de-cheiro" *Saimiri sciureus sciureus* (L.); *T. diasi* Deane & Martins, 1952, no "macaco-prego" *Cebus apella apella* (L.); *T. devei* Leger & Porry, 1918, no mico *Leontocebus tamarin tamarin* (Link); *T. mycetae* Brumpt, 1913, no bugio *Alouatta belzebul belzebul* (L.) e *Endotrypanum schaudinni* Mesnil & Brimont, 1908, na "preguiça-real" *Choloepus didactylus* (L.).

Fazem os autores alguns comentários sôbre a morfologia e a biologia dos hemoflagelados observados e salientam que, com o encontro do *T. saimirii* em macacos da referida Zona, eleva-se o número de espécies de tripanosomas da Amazônia que evoluem em triatomíneos e dos quais já se conheciam os do tipo *cruzi*, os do tipo *rangeli*, o *T. diasi* e o *T. conorrhini*.

INTRODUÇÃO

Entre agôsto de 1950 e maio de 1951, demos início à execução de um plano de estudos para o Instituto de Malariologia do extinto Serviço Nacional de Malária, que incluía a pesquisa e eventual isolamento de plasmódios de animais silvestres da Região Amazônica. Nosso principal interêsse era por malária simiana, mas examinamos também outros mamíferos.

Já haviam sido assinalados, embora raramente, plasmódios em animais da Amazônia. Com efeito, de lá fôra descrito em 1908, por Gonder & Berenberg-Gossler [22], o *Plasmodium brasilianum* no símio *Brachyurus calvus* e, num macaco proveniente de Lábrea, Estado do Amazonas, o Dr. G. Britto Mello encontrara, em 1941, um plasmódio semelhante ao *P. malariae*, provàvelmente o próprio *P. brasilianum*. Também em morcegos do gênero *Glossophaga*, capturados nas proximidades de Abaetetuba, Estado do Pará, havia sido anteriormente constatada infecção por plasmódios (L. M. Deane & M. P. Deane, dados inéditos).

Entretanto, nos animais capturados durante o intervalo acima referido não encontramos nenhum plasmódio. Assinalamos, porém, os hemoflagelados que constituem objeto da presente nota.

MATERIAL E MÉTODOS

Como áreas destinadas à captura dos animais escolhemos trechos sabidamente ricos em macacos e de fácil acesso, situados no

Fac. Med. Univ. São Paulo — Depart. Parasitologia (Prof. A. D. F. Amaral) e Instituto de Malariologia do extinto Serviço Nacional de Malária, Rio de Janeiro.
(1) Docente Livre e Assistente, Depart. Parasitologia, Fac. Medicina Univ. São Paulo.
(2) Departamento Nacional de Endemias Rurais.

município de Maracanã, Zona do Salgado, no litoral Leste do Estado do Pará e cuja sede municipal dista cêrca de 145 km da capital do Estado. Instalamos os postos de captura em dois locais: a Ilha Maiandêua, situada na foz do rio Maracanã e onde predominam as capoeiras, e o sítio Piri, em zona de matas altas, no continente. Ambos são povoados de casas esparsas e população muito pobre, que em Maiandêua é formada em grande parte por pescadores e em Piri por camponeses que se dedicam ao cultivo da mandioca. A caçada e a preparação do material dos animais nos postos eram feitas por quatro guardas, chefiados e diretamente orientados por um de nós.

Procuramos capturar sempre que possível os animais vivos, em alçapões, ou rêdes, ou com estilingues, porém muitos foram caçados a tiro. Êstes animais e os que morriam no local eram necropsiados, sendo feitas preparações de sangue (2 esfregaços e gôtas espêssas, corados pelo Giemsa) e impressões de fígado, baço, medula óssea e coração, conservados em formol pedaços dêsses órgãos e preparados a pele e o crânio para classificação por especialista. Sempre que possível fazia-se também o exame de sangue a fresco, pressupondo a possibilidade de encontrar flagelados. Os animais conseguidos vivos eram sangrados e oportunamente transportados para Belém e, em seguida, por via aérea, para o Rio de Janeiro. Aí eram mantidos no Instituto de Malariologia, onde seu sangue era examinado semanalmente. Os que se revelavam parasitados por hemoflagelados serviam eventualmente para observações adicionais, como xenodiagnóstico através triatomíneos e hemoculturas em meio de N.N.N., sendo a seguir necropsiados.

A identificação da maioria dos animais foi feita pelo Dr. João Moojen, zoólogo do Museu Nacional (Rio de Janeiro).

RESULTADOS OBTIDOS

Apesar de serem mais abundantes os animais na mata de Piri do que na de Maiandêua, foi nesta que obtivemos maior número dêles em vista da maior facilidade de captura de macacos em lugares descampados e próximos de plantações.

Examinamos, ao todo, o sangue de 192 mamíferos de 18 espécies, incluindo 120 macacos de 5 espécies (Quadro I); dêstes últimos 101 foram caçados em Maiandêua e 19 em Piri.

Nos macacos encontramos 4 espécies de *Trypanosoma*: *T. saimirii* Rodhain, 1941, *T. diasi* Deane & Martins, 1952, *T. devei* Leger & Porry, 1918 e *T. mycetae* Brumpt, 1913. O exame de todos os outros mamíferos foi negativo, exceto o das preguiças reais, entre as quais encontramos alguns exemplares com *Endotrypanum schaudinni* Mesnil & Brimont, 1908.

Trypanosoma saimirii Rodhain, 1941

Em 1937 Rodhain [27] examinando, no Jardim Zoológico de Antuérpia, Bélgica, o sangue de macacos *Saimiri sciureus*, provenientes do Brasil, encontrou e descreveu um tripanosoma que identificou provisòriamente ao *T. minasense*, descoberto por Chagas [7, 8], em 1908, no "mico estrêla" (*Callithrix penicillata*) e simultâneamente por Carini [6] no *C. jacchus*, embora notasse que as dimensões eram menores do que as dadas por Carini para aquêle flagelado. Obteve com dificuldade a infecção fugaz de um camundongo branco esplenectomizado, mas não logrou infectar outro camundongo, nem um rato, um hamster ou um *Saimiri* que inoculou. Conguiu, entretanto, belas hemoculturas em meio de N.N.N. Posteriormente, Rodhain [28] procurou infectar em macacos parasitados vários artrópodes, como carrapatos, pulgas, percevejos e triatomíneos, constatando a evolução do flagelado, com a produção de critídias e tripanosomas metacíclicos no intestino de elevada proporção de *Panstrongylus megistus* e *Cimex lectularius*. Mais tarde o mesmo autor (Rodhain [29]) considerou êste tripanosoma espécie nova, com o nome de *Trypanosoma saimirii*, separando-o do *T. minasense* por diferenças morfológicas e biológicas: morfològicamente verificou que o *T. saimirii* é menor, tem o cinetoplasta mais próximo da extremidade posterior que é gradualmente estreitada em ponta mais afilada; biològicamente as diferenças estariam na extrema dificuldade com que Rodhain obteve cultivo em N.N.N. e infecção

QUADRO I

Hemoflagelados encontrados pelo exame direto do sangue, em mamíferos silvestres capturados na Zona do Salgado (Município de Maracanã), Estado do Pará.

Espécie de mamífero		Nº de examinados	Número de positivos para				
			Trypanosoma				*Endotrypanum schaudinni*
Nome científico	Nome vulgar		*T. saimirii*	*T. diasi*	*T. devei*	*T. mycetae*	
PRIMATES							
Saimiri sciureus sciureus *	Macaco de cheiro	29	4	—	—	—	—
Cebus apella apella *	Macaco prego	48	—	1	—	—	—
Alouatta belzebul belzebul *	Guariba (bugio)	34	—	—	—	2	—
Leontocebus tamarin tamarin	Macaco pretinho, sauim	6	—	—	1	—	—
Aotus infulatus *	Macaco da noite	3	—	—	—	—	—
MARSUPIALIA							
Didelphis marsupialis	Mucura (gambá)	3	—	—	—	—	—
EDENTATA							
Dasypus novemcinctus *	Tatu-etê	4	—	—	—	—	—
Tamandua tetradactyla	Tamanduá colête	1	—	—	—	—	
Choloepus didactylus	Preguiça real	20	—	—	—	—	10
Bradypus tridactylus	Preguiça bentinha	5	—	—	—	—	—
RODENTIA							
Proechimys guyannensis oris	Rato sauiá	3	—	—	—	—	—
Cuniculus paca paca *	Paca	1	—	—	—	—	—
Dasyprocta prymnolopha *	Cutia	5	—	—	—	—	
Sciurus gilvigularis paraensis	Coatipuru	1	—	—	—	—	—
Coendou sp.	Coandu	5	—	—	—	—	—
CARNIVORA							
Nasua nasua nasua *	Coati	4	—	—	—	—	
CHIROPTERA							
Micronycteris megalotis *	Morcego	5	—	—	—	—	—
Tonatia bidens *	Morcego	8	—	—	—	—	—
Espécie indeterminada	Morcego	7	—	—	—	—	—
Total		192	4	1	1	2	10

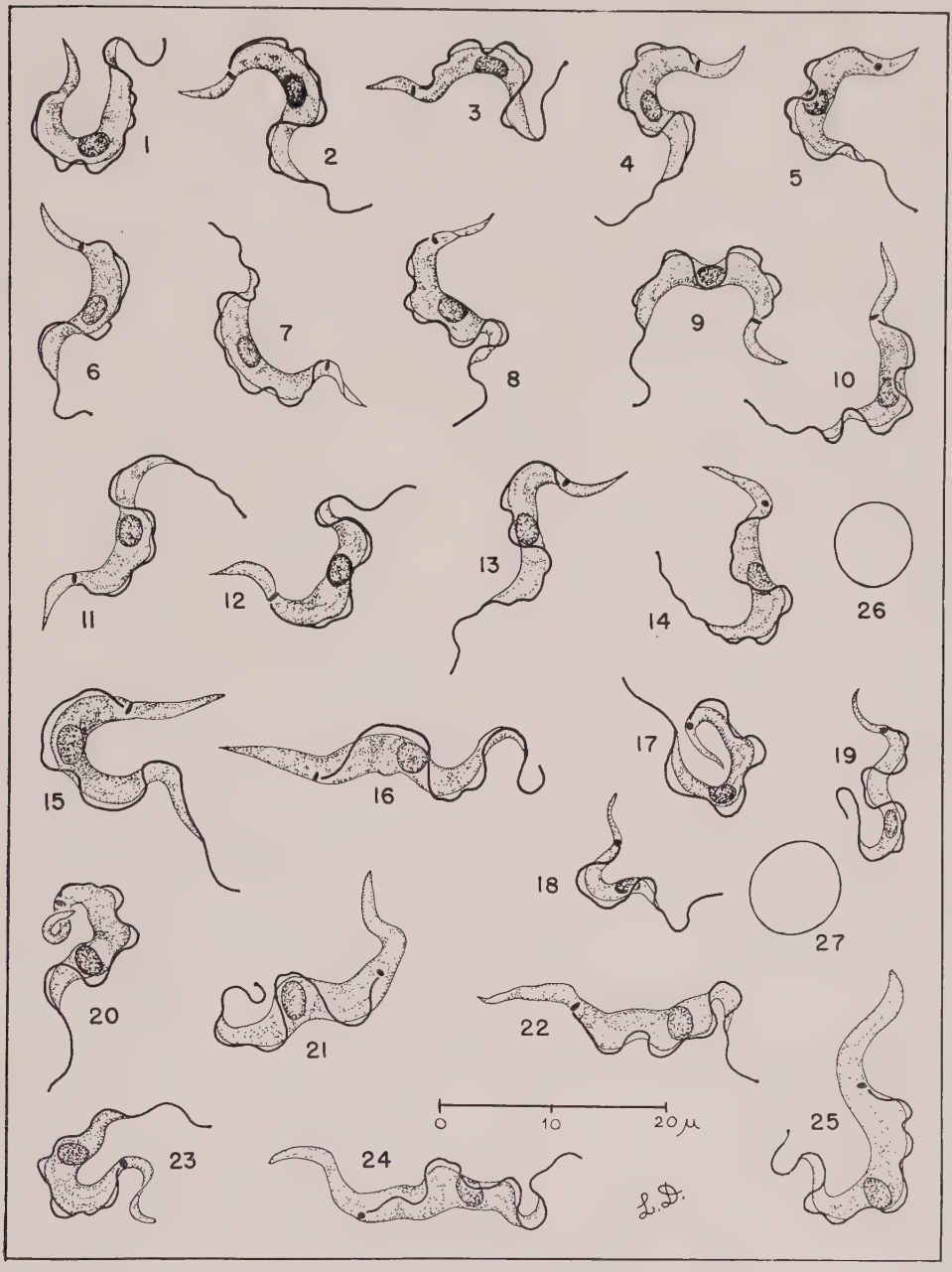
* Espécies identificadas pelo Dr. João Moojen, do Museu Nacional (Rio de Janeiro).

de percevejos e triatomíneos com o *T. minasense*, em contraste com os resultados conseguidos com o tripanosoma do *Saimiri*.

Examinando, no presente estudo, o sangue de 29 *Saimiri sciureus sciureus* (L.), conhecidos na Amazônia como "macacos de cheiro", constatamos em 4 dêles a infecção pelo *T. saimirii* (figs. 1 a 14). Foi-nos possível estudá-lo comparativamente com o *T. minasense* (figs. 20 a 25), que encontramos em 2 "micos estrêla" (*Callithrix jacchus*), comprados no mercado do Rio de Janeiro e dados como provenientes da Bahia; tais micos não existem na Região Amazônica, onde vive o *Saimiri sciureus*. A observação de numerosas formas sangüícolas de ambas as espécies de tripanosoma confirmou os caracteres comuns a êsses dois flagelados anteriormente assinalados por RODHAIN [27, 28]: tamanho relativamente grande, cinetoplasta afastado da extremidade posterior que é alongada, membrana ondulante bem desenvolvida e pregueada, vacúolos conspícuos na vizinhança do núcleo, flagelo livre com um pequeno espessamento terminal freqüentemente visível. Entretanto, como se vê por nossas figuras e pela micrometria de exemplares de *T. saimirii* e de *T. minasense* em esfregaços de sangue preparados com a mesma técnica (Quadro II), comprovamos as mesmas diferenças acusadas por RODHAIN e atrás mencionadas. Estudamos também comparativamente alguns aspectos da biologia dos dois tripanosomas: semeando em meio de N.N.N. o sangue de um dos macacos *Saimiri* positivos, obtivemos abundantes critídias e tripanosomas com predominância das formas longas e delgadas assinaladas por RODHAIN [28] e procedendo o xenodiagnóstico com 10 ninfas de *Rhodnius prolixus* em outro *Saimiri* parasitado conseguimos infecção de intensidade variável, por critídias e tripanosomas, em 4 dos "barbeiros"; inoculamos intraperitonealmente 5 camundongos de 10 dias de idade com o sangue de um dos "macacos de cheiro" infectados e 3 outros camundongos da mesma idade com o conteúdo intestinal de 3 "barbeiros" positivos: não evidenciamos infecção dos camundongos durante os 2 meses em que tiveram seu sangue examinado a fresco duas vêzes por semana, nem ao xenodiagnóstico procedido com um total de 8 ninfas de *R. prolixus*, nem ao exame das impressões de vísceras (fígado, baço, medula óssea e coração), obtidas por ocasião da necropsia. Utilizando um dos *Callithrix jacchus* com tripanosomas, não logramos obter hemoculturas positivas nem infectar *R. prolixus* (10 ninfas). Portanto, os caracteres biológicos que observamos em nossas estirpes de tripanosoma do *Saimiri sciureus*, isto é, possibilidade de ser cultivado em N.N.N. e de evoluir em "barbeiros" e sua pouca ou nenhuma virulência para camundongos, bem como os que verificamos numa estirpe de tripanosoma do *Callithrix jacchus*, coincidem também com os constatados por RODHAIN [28, 29].

Nenhum de nossos *Saimiri sciureus* parasitados parecia doente.

Julgamos oportuno lembrar aqui que, em 1922, ABEN-ATHAR [1] refere ter encontrado juntamente com SOUZA ARAUJO, no sangue de 45% dos "macacos de cheiro" (*Saimiri sciureus*) do Pará, que examinaram, um pequeno tripanosoma transmissível a cobaios, nos quais sua virulência crescia de passagem em passagem até matá-los em 8 dias; em 1924, CHAGAS [9, 10] identificou ao *T. cruzi* os tripanosomas que achou em macacos da mesma espécie e proveniência, em vista do aspecto das formas sangüícolas no hospedeiro selvagem e das formas teciduais encontradas em cães inoculados e da virulência constatada em cães e cobaios. Entretanto, o *T. cruzi* não foi novamente assinalado neste hospedeiro, apesar de repetidas pesquisas de reservatórios do parasito na Região. Pessoalmente examinamos com resultado negativo para o *T. cruzi*, exemplares de *S. sciureus* referidos em publicação anterior (DEANE [16]), os que estão incluídos no presente trabalho e ainda 23 outros provenientes do Pará, comprados para o Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, cujo exame nos foi facultado pelo Dr. A. Fajer, e entre os quais também encontramos infecções pelo *T. saimirii*, que vêm servindo para estudos cujo resultado será oportunamente divulgado.



Figs. 1 a 19 — Tripanosomas de macacos da Região Amazônica. 1 a 14 — *T. saimirii*, do *Saimiri sciureus;* 15 e 16 — *T. diasi*, do *Cebus apella apella;* 17 a 19 — *T. mycetae*, do *Alouatta belzebul belzebul.* Figs. 20 a 25 — *Trypanosoma minasense*, do *Callithrix jacchus*, de outras regiões do Brasil. Figs. 26 e 27 — Hemácias de *S. sciureus* e *A. belzebul*, respectivamente.

QUADRO II

Medidas de *T. saimirii*, *T. diasi*, *T. mycetae* e *T. minasense* (em micra).

Medidas	*T. saimirii* (22 exemplares)			*T. diasi* (4 exemplares)			*T. mycetae* (6 exemplares)			*T. minasense* (39 exemplares)		
	M	Mx	Mn	M	Mx	Mn	M	Mx	Mn	M	Mx	Mn
Corpo, comprimento	23,3	26,0	19,2	35,2	36,2	33,5	23,8	24,9	22,4	30,6	39,0	23,0
Extremidade posterior ao cinetoplasta	5,3	7,6	3,8	8,9	11,3	7,3	5,4	6,2	4,8	10,7	14,0	6,8
Cinetoplasta	0,8	1,0	0,4	0,9	1,1	0,9	0,4	0,4	0,4	0,8	1,2	0,4
Cinetoplasta ao núcleo	6,6	8,0	4,6	7,2	7,5	6,7	10,5	11,9	9,2	8,7	13,6	5,6
Núcleo	2,7	3,2	2,2	3,4	3,5	3,0	2,6	2,6	2,6	2,3	3,6	2,0
Núcleo à extremidade anterior	8,3	9,8	6,0	15,7	17,8	14,0	5,4	6,8	4,4	8,4	11,2	5,6
Flagelo livre	7,6	10,4	6,0	7,8	8,6	7,0	9,6	11,9	7,6	6,6	9,0	5,4
Largura do corpo	2,8	3,4	2,4	3,0	3,6	2,7	2,3	2,4	2,2	3,5	4,4	2,6
Largura da membrana ondulante	0,7	1,2	0,2	0,7	0,9	0,4	0,7	0,8	0,6	0,5	1,4	0,2
Índice cinetoplástico *	0,8	1,1	0,6	1,2	1,4	0,9	0,5	0,7	0,4	1,2	1,8	0,8
Índice nuclear **	1,4	1,8	0,8	1,0	1,3	0,8	2,4	2,9	2,0	2,1	3,0	1,6

M = Medidas médias; Mx = medidas máximas; Mn = medidas mínimas.

* = Relação entre a distância da extremidade posterior do corpo ao cinetoplasta e a dêste à borda anterior do núcleo.

** = Relação entre a distância da extremidade posterior do corpo ao meio do núcleo e a dêste ponto à extremidade anterior do corpo.

Trypanosoma diasi Deane & Martins, 1952

Encontramos êsse tripanosoma em um "macaco prego" *Cebus apella apella* (L.), dentre os 34 examinados, tendo o material então obtido servido de base à descrição do flagelado como nova espécie (Deane & Martins [18]). O hospedeiro é o macaco mais comum na área estudada. Conforme referido na descrição original, os tripanosomas (figs. 15 e 16) eram muito escassos no sangue, só tendo sido encontradas quatro formas nos numerosos esfregaços ou gôtas espêssas examinados durante vários meses. Suas medidas figuram no Quadro II.

Hemoculturas foram fàcilmente obtidas em meio de N.N.N., conseguindo-se também a infecção experimental de numerosos triatomíneos de diferentes espécies (*Triatoma infestans, Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus*) que sugaram o macaco, observando-se naqueles insetos raros parasitos nas fezes, numerosos no interior do tubo digestivo e nenhum na hemolinfa ou nas glândulas salivares. Foram negativas as tentativas feitas no laboratório para infectar outros animais (camundongo branco, cobaia, cão ou macaco *Cebus*), quer com o sangue do hospedeiro original, quer com o conteúdo intestinal de triatomíneos experimentalmente infectados.

As formas evolutivas do interior dos triatomíneos (leishmanióides, critídias e tripanosomas) parecem indistinguíveis das de *T. rangeli*, mas Deane & Martins [18] consideram o flagelado espécie diferente, pelo aspecto das formas sangüícolas. Costa [11] aventa a hipótese de ser o *T. diasi* sinônimo de *T. rangeli*, do que entretanto discordam Zeledon [32] e Pessôa [26].

Trypanosoma devei Leger & Porry, 1918

Em um "macaco pretinho" *Leontocebus tamarin tamarin* (Link), dentre 6 examinados, encontramos, em esfregaço de sangue, um único exemplar de tripanosoma longo e estreito e com o cinetoplasta muito afastado da extremidade posterior, semelhante àqueles que anteriormente encontráramos (Deane [16]) em Abaetetuba no mesmo hospedeiro e que identificamos ao *T. devei*, descoberto em 1918 por Leger & Porry [24], no sangue de um mico (*Midas midas* ?), na Guiana Francesa.

Trypanosoma mycetae Brumpt, 1913

No sangue de 2 dentre 34 *Alouatta belzebul belzebul* (L.), bugio conhecido na Amazônia como "guariba prêto" ou "guariba de mão ruiva", encontramos o flagelado que estamos identificando ao *Trypanosoma mycetae*. É um tripanosoma menor e muito mais estreito que o *T. diasi* e o *T. saimirii*. Distingue-se ainda por sua porção pós-cinetoplástica muito estreita, pelo índice cinetoplástico pequeno e pelo grande índice nuclear; o cinetoplasta é granular ou bastonóide curto, a membrana ondulante bem pregueada, o flagelo livre longo e sem dilatação terminal (figs. 17 a 19 e Quadro 2). Os esfregaços de fígado, baço, medula óssea, pulmão, cérebro e coração de um dos bugios parasitados mostraram-se negativos.

O *T. mycetae* foi descoberto por Brimont [4], em 1909, no bugio *Alouatta senicolus*, na Guiana Francesa. Êsse pesquisador não denominou nem figurou o tripanosoma, mas o descreveu como medindo 28 μ de comprimento e 2,5-3 μ de largura, com cinetoplasta distante 9,5 μ da extremidade posterior, flagelo livre de 8-10 μ e membrana ondulante estreita; Laveran & Mesnil [23], em 1912, publicaram um desenho do flagelado e no ano seguinte Brumpt [5] conferiu a êste a designação de *Trypanosoma mycetae*.

Outros autores têm achado tripanosomas em bugios. Romaña [31], em 1931, na Argentina, descreveu o *T. forestali*, do *Alouatta caraya;* o aspecto dêste flagelado e as suas medidas (que obtivemos utilizando a escala micrométrica que acompanha os desenhos do autor) não diferem, a nosso ver, dos de *T. mycetae*. Quase simultâneamente, mas desconhecendo o trabalho de Romaña, que ainda não havia sido publicado, Arantes & Fonseca [2] denominaram *T. manguinhense* o

tripanosoma que encontraram em bugio de São Paulo, determinado então como *Alouatta caraya*. As medidas que deram para êsse tripanosoma e a figura de um exemplar, correspondem a um flagelado muito maior e mais largo que o *T. forestali*, porém como as preparações de sangue utilizadas por Romaña eram gôtas espêssas e as de Arantes & Fonseca esfregaços, êstes autores, em trabalho posterior (Arantes & Fonseca [3]) discutem a possibilidade de ser o *T. manguinhense* sinônimo de *T. forestali*, concluindo que, para esclarecer a questão, seriam necessários estudos adicionais, inclusive a identificação rigorosa dos hospedeiros. A êste respeito fomos recentemente informados pelo Prof. Flávio da Fonseca, um dos autores de *T. manguinhense*, que provàvelmente o hospedeiro dêsse tripanosoma era um *Alouatta fusca*, bugio ruivo e encontradiço em São Paulo.

Endotrypanum schaudinni Mesnil & Brimont, 1908

Encontramos essa critídia endoeritrocítica em 10 dentre as 20 "preguiças reais" *Choloepus didactylus* (L.) examinadas, sendo esta a mesma espécie de animal na qual Mesnil & Brimont [25] haviam descoberto o parasita e o único hospedeiro conhecido na Região Amazônica, embora outras espécies de preguiça tenham sido encontradas infectadas alhures, conforme discutimos em trabalho precedente (Deane [16]). Fizemos 20 ninfas de *Triatoma infestans* sugar 2 das preguiças positivas, não conseguindo a evolução do protozoário nesses insetos, o que coincide com observações anteriores: Cunha & Muniz [12] não lograram obter a mera sobrevivência dos flagelados ingeridos por *Rhodnius prolixus* que sugaram formas culturais de endotrípano misturadas a sangue de cobaio e nós mesmos (Deane [16]) não tivemos êxito nas tentativas de infecção de várias espécies de triatomíneos que alimentamos numa preguiça positiva, capturada em outra zona (Abaetetuba) do Pará.

Não achamos tripanosomas no sangue das preguiças de Maracanã, nem encontramos elementos leishmanióides nas vísceras de 13 delas que foram necropsiadas, incluindo 8 das portadoras de *Endotrypanum*.

COMENTÁRIOS

Conforme mencionamos, alimentando triatomíneos criados em laboratório, num dos "macacos de cheiro" naturalmente infectado com o *Trypanosoma saimirii*, constatamos posteriormente a presença de flagelados (critídias e tripanosomas) no tubo digestivo dos insetos, fato que Rodhain [28] verificara anteriormente. Não é impossível que essas formas evolutivas pertençam a outra espécie de tripanosoma porventura albergado pelo *Saimiri* e cuja presença não tenha sido revelada pelo exame direto do sangue. Em carta recebida do Prof. P. C. C. Garnham pelo autor senior e datada de 15 de julho de 1960, aquêle investigador refere estar estudando, juntamente com o Dr. Gonzalez, da Colômbia, um tripanosoma do *Saimiri*, afim ao *T. cruzi* e ao *T. prowazecki*, constituindo provàvelmente uma nova espécie e que também evolui em triatomíneos. De qualquer maneira, a nossa presente constatação eleva o número de espécies de tripanosomas da Amazônia que evoluem em "barbeiros", as anteriormente conhecidas sendo os tripanosomas do tipo *cruzi* encontrados em várias espécies de animais (Chagas [9, 10]; Deane & Jansen [17]; Ferreira & Deane [21]; Rodrigues & Mello [30]; Dias *et al.* [20]; Deane [13, 14, 15, 16]), tripanosomas do tipo *rangeli* (Deane [13, 14]), o *T. diasi* (Deane & Martins [18]) e o *T. conorrhini* (M. P. Deane [19]).

SUMMARY

Mammalian Trypanosomidae *from the Amazon Region of Brazil. II. Trypanosomes of monkeys from the Salgado Zone, State of Pará.*

Searching for malaria infections, the Authors examined the blood of monkeys and other wild mammals from the Salgado Zone, coast of the State of Pará, Amazon Region of Brazil. No plasmodia were found, but the following *Trypanosomidae* were recorded: *Trypanosoma saimirii* Rodhain, 1941, in

the squirrel-monkey *Saimiri sciureus sciureus* (L.); *T. diasi* Deane & Martins, 1952, in the capuchin-monkey *Cebus apella apella* (L.); *T. devei* Leger & Porry, 1918, in the tamarin *Leontocebus tamarin tamarin* (Link); *T. mycetae* Brumpt, 1913, in the howler-monkey *Alouatta belzebul belzebul* (L.) and *Endotrypanum schaudinni* Mesnil & Brimont, 1908, in the two-toed sloth *Choloepus didactylus* (L.).

The Authors comment on the morphology and biology of the above hemoflagellates and emphasize that the present finding of *T. saimirii* increases the number of species of trypanosomes of the Amazon Region of Brazil known to develop in triatomid bugs, those previously known being the *cruzi*-like and *rangeli*-like trypanosomes, *T. diasi* and *T. conorrhini*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Luís M. Scaff, Diretor do Setor Pará do extinto Serviço Nacional de Malária e aos guardas Lázaro Lopes, Estêvão do Rosário e Luís Bernardo, pela ajuda que nos proporcionaram para a realização dêste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. ABEN-ATHAR, J. — Primeiro ano de funcionamento do Instituto de Higiene de Belém. *In* H. C. SOUZA ARAUJO — A profilaxia rural no Estado do Pará. Liv. Gillet, Pará, 1922.

2. ARANTES, J. B. & FONSECA, F. — *Trypanosoma manguinhense* n. sp., parasita do bugio *Alouatta caraya* (Humb.). Mem. Inst. Butantan **6**:223-226, 1931.

3. ARANTES, J. B. & FONSECA, F. — Sôbre a possível sinonímia do *Trypanosoma manguinhense* Arantes et Fonseca, 1931 e *Trypanosoma forestali* Romaña 1931. 9ª Reunión Soc. Argent. Patol. Reg.: 953-954, 1935.

4. BRIMONT, E. — Sur quelques hématozoaires de la Guyane. C. R. Soc. Biol. **2**:169-171, 1909.

5. BRUMPT, E. — Précis de parasitologie. Masson Ed., Paris, pág. 165, 1913.

6. CARINI, A. — Über *Trypanosoma minasense*. Arch. f. Schiffs & Tropenhyg. **13**:447-448, 1909.

7. CHAGAS, C. — Neue Trypanosomen. Arch. f. Schiffs & Tropenhyg. **13**:120-122, 1909.

8. CHAGAS, C. — *Trypanosoma minasense*. Brasil-méd. **22**:471, 1908.

9. CHAGAS, C. — Sôbre a verificação do *Trypanosoma cruzi* em macacos do Pará (*Chrysothrix sciureus*). Sciencia méd. **2**:75-76, 1924.

10. CHAGAS, C. — Infection naturelle des singes du Pará (*Chrysothrix sciureus*) par *Trypanosoma cruzi*. C. R. Soc. Biol. **90**:873-876, 1924.

11. COSTA, A. L. — Triatomíneos e tripanosomas por êles veiculados da zona central da Cidade do Salvador, Bahia. Tese Fac. Med. Univ. Bahia, Salvador, 81 pp., 1955.

12. CUNHA, A. M. & MUNIZ, J. — Pesquisas sôbre o *Endotrypanum schaudinni* Mesnil & Brimont, 1908, parasita do *Choloepus didactylus* (L.). Mem. Inst. Oswaldo Cruz **41**: 179-194, 1944.

13. DEANE, L. M. — Encontro de tripanossomo do tipo *rangeli* em gambás da espécie *Didelphis marsupialis marsupialis*, no Estado do Pará. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. **10**:451-458, 1958.

14. DEANE, L. M. — Novo hospedeiro de tripanossomos dos tipos *cruzi* e *rangeli* encontrado no Estado do Pará: o marsupial *Metachirops opossum opossum*. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. **10**:531-541, 1958.

15. DEANE, L. M. — Sôbre um tripanossomo do tipo *cruzi* encontrado num rato silvestre, no Estado do Pará. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. **12**, 1960 (em publicação).

16. DEANE, L. M. — Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. I. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo **3**:15-28, 1961.

17. DEANE, L. & JANSEN, G. — Encontro do *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909) em marsupiais da espécie *Marmosa cinerea* Desm. Brasil-méd. **53**:265-266, 1939.

18. DEANE, L. M. & MARTINS, R. — Sôbre um tripanosoma encontrado em macaco da Amazônia e que evolui em triatomíneos. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. **4**: 47-61, 1952.

19. DEANE, M. P. — Ocorrência do *Trypanosoma conorrhini* em "barbeiros" e em rato na cidade de Belém, Pará e seu cultivo em meio de N.N.N. Rev. Serv. especial Saúde públ. **1**:433-448, 1947.

20. DIAS, E.; MELLO, G. B.; COSTA, O.; DAMASCENO, R. & AZEVEDO, M. — Investigações sôbre esquizotripanose de morcegos no Estado do Pará; encontro do "barbeiro" *Cavernicola pilosa* como transmissor. Rev. brasil. Biol. **2**:103-110, 1942.

21. FERREIRA, L. C. & DEANE, L. — Novo depositário silvestre do *Schizotrypanum cruzi* (Chagas 1909): a irara *Tayra barbara* L. Brasil-méd. **52**:1159-1161, 1938.

22. GONDER, R. & von BERENBERG-GOSSLER, H. — Untersuchungen über Malaria-plasmodien der Affen. Malaria Internat. Arch. **1**: 47-56, 1908.

23. LAVERAN, A. & MESNIL, F. — Trypanosomes et trypanosomiases. Masson Ed., Paris, 1000 pp., 1912.

24. LEGER, M. & PORRY, E. — Trypanosomes nouveaux de deux singes de la Guyane Française. C. R. Soc. Biol. **81**:180-183, 1918.

25. MESNIL, F. & BRIMONT, E. — Sur un hématozoaire nouveau (*Endotrypanum* n. gen.) d'un édenté de la Guyane. C. R. Soc. Biol. **65**:581, 1908.

26. PESSÔA, S. B. — Hospedeiros vertebrados (não humanos) do *Trypanosoma cruzi*. Rev. Goiana Med. **4**:83-101, 1958.

27. RODHAIN, J. — Notes sur *Trypanosoma minasense* Chagas. C. R. Soc. Biol. **125**: 1034-1036, 1937.

28. RODHAIN, J. — Notes sur *Trypanosoma minasense* (Chagas). Évolution du trypanosome du *Saimiri* chez divers arthropodes. C. R. Soc. Biol. **126**:69-72, 1937.

29. RODHAIN, J. — Notes sur *Trypanosoma minasense* Chagas. Identité spécifique du trypanosome du Saimiri *Chrysothrix sciureus*. Acta Biol. belg. **1**:187-192, 1941.

30. RODRIGUES, B. A. & MELLO, G. B. — Contribuição ao estudo da tripanosomíase americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **37**:77-90, 1942.

31. ROMAÑA, C. — Hemoparasitos hallados en el sur del Chaco en monos "caraya" *Alouatta caraya* (Humb.). 7ª Reunión Soc. Argent. Patol. Reg.: 1008-1012, 1931.

32. ZELEDON, R. — Tripanosomíasis rangeli. Rev. Biol. trop. (Costa Rica) **2**:231-268, 1955.

Recebido para publicação em 27 fevereiro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):71-74, março-abril 1961

CDU 616.24-002.5
:577.15.082

DETERMINAÇÃO DA TRANSAMINASE GLUTÂMICO-OXALACÉTICA NO SÔRO DE PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR

Vicente Amato Neto [1], Radyr de Queiroz [2], Henrique Elkis [3] e Celeste Fava Netto [4]

RESUMO

Determinaram os autores a taxa de transaminase glutâmico-oxalacética no sôro de 29 pacientes com tuberculose pulmonar. Em 37,9% dos casos evidenciaram valores normais; quanto aos outros, verificaram alterações não muito pronunciadas, atingindo, no máximo, 112 unidades Sigma-Frankel por ml de sôro.

As amostras de sangue foram sempre obtidas antes de ter início o tratamento específico. Em relação aos doentes considerados, eram diversos o grau e o tipo de acometimento pulmonar, assim como os períodos de duração da infecção.

Deduções de ordem prática, relacionadas com os resultados constatados, foram lembradas pelos autores.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento dos estudos e suas conseqüentes aplicações práticas em relação à determinação das quantidades de certas enzimas no sôro, como por exemplo a transaminase glutâmico-oxalacética, têm proporcionado elementos para melhor compreensão de diferentes mecanismos fisiopatológicos, como também fornecido subsídios de real valor diagnóstico. A avaliação das taxas de transaminases no sôro, em casos de hepatite infecciosa por vírus, demonstra de forma patente a exatidão das afirmações acima.

Lembramos ainda que, quanto à terapêutica de diferentes processos mórbidos, a dosagem dessas enzimas é útil com as finalidades de fornecer elementos informativos quanto ao contrôle de cura e eventuais danos de caráter tóxico motivados pelas medicações utilizadas.

Considerando o interêsse representado pela apreciação do comportamento da transaminase glutâmico-oxalacética no sôro de pacientes com variadas afecções, especialmente no que concerne às finalidades citadas, resolvemos, na presente investigação, reconhecer os valores encontráveis em casos de tuberculose pulmonar, entidade que constitui, inegàvelmente, um dos problemas mais freqüentes na prática médica rotineira.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos neste estudo o sôro de 29 pacientes com tuberculose pulmonar devidamente confirmada. As amostras de sangue, colhidas em jejum, foram obtidas antes de ser iniciado o tratamento específico. Todos os doentes, adultos, de ambos os sexos, sem outras afecções importantes, estavam internados em hospitais da Associação dos Sanatórios Populares "Campos do Jordão". Cui-

Fac. Med. Univ. São Paulo — Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas (Diretor: Prof. João Alves Meira).

(1) Docente livre de Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas.
(2) Diretor clínico dos Sanatórios Populares "Campos do Jordão".
(3) Médico do laboratório da Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas.
(4) Assistente do Depart. de Microbiologia e Imunologia da Fac. Med. Univ. São Paulo.

dadoso exame clínico e adequadas apreciações laboratoriais e radiológicas determinaram o tipo de acometimento devido à infecção.

Para a dosagem da transaminase glutâmico-oxalacética empregamos o método de REITMAN & FRANKEL [1], sendo os resultados expressos em unidades Sigma-Frankel (S-F) de transaminase por ml e considerados normais os valores de 8 a 40.

RESULTADOS

No quadro apresentado a seguir estão registrados os valores séricos de transaminase glutâmico-oxalacética constatados, assim como outros dados relacionados com os casos considerados.

Assim, em 11 casos (37,9%), apresentaram-se normais os resultados registrados; com referência aos demais, taxas superiores ao limite máximo da normalidade ocorreram.

QUADRO

Transaminase glutâmico-oxalacética em casos de tuberculose pulmonar.

Caso	Tempo de duração da doença antes da internação	Caracterização do comprometimento pulmonar	Resultado (u. S-F de transaminase por ml de sôro
1 — M.P.	4 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	112
2 — A.C.F.	8 anos	Tuberculose muito avançada, mista, multiescavada à esquerda.	76
3 — A.B.	3 anos	Tuberculose moderadamente avançada, exsudativa, escavada à esquerda. Pleuris exsudativo.	55
4 — J.J.G.	4 meses	Tuberculose mínima produtiva.	28
5 — J.J.F.	3 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, multiescavada em ambos os lados.	70
6 — H.S.	2 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	30
7 — J.A.P.	8 meses	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à esquerda.	68
8 — J.V.	9 meses	Tuberculose moderadamente avançada, produtiva, escavada em ambos os lados.	44
9 — W.L.B.	4 meses	Tuberculose mínima produtiva.	32
10 — J.S.F.	3 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	53
11 — I.P.S.	9 meses	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à direita.	18
12 — A.F.	2 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, multiescavada à direita.	14
13 — A.J.C.	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à direita.	44
14 — U.C.B.	4 anos	Tuberculose muito avançada, exsudativa, multiescavada à direita.	56
15 — A.M.	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à direita.	48

(*Continua*)

QUADRO (*continuação*)

Caso	Tempo de duração da doença antes da internação	Caracterização do comprometimento pulmonar	Resultado (u. S-F de transaminase por ml de sôro
16 — G.A.S.	2 anos	Tuberculose muito avançada, exsudativa, multiescavada à direita.	60
17 — J.P.	5 meses	Tuberculose moderadamente avançada, produtiva, escavada à direita.	74
18 — R.O.	12 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, multiescavada em ambos os lados.	37
19 — W.G.	2 anos	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita. Mal de Pott.	86
20 — C.P.	2 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, escavada em ambos os lados.	86
21 — G.A.F.	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à esquerda	66
22 — O.R.S.	4 meses	Tuberculose muito avançada, mista, multiescavada em ambos os lados.	56
23 — A.A.	3 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	25
24 — M.T.S.	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada em ambos os lados.	45
25 — M.R.	4 anos	Tuberculose muito avançada, mista, multiescavada em ambos os lados.	45
26 — L.L.G.	1 ano	Tuberculose muito avançada, exsudativa, escavada em ambos os lados.	33
27 — N.S.	7 meses	Tuberculose muito avançada, exsudativa, escavada à direita.	14
28 — V.N.	1 ano	Tuberculose muito avançada, exsudativa, escavada à direita.	30
29 — L.S.	4 anos	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à esquerda. Empiema tuberculoso à direita.	34

COMENTÁRIOS

As verificações referidas permitem várias considerações, abaixo enumeradas.

1. — De um modo geral, os resultados anormais evidenciaram alterações não acentuadas, fato digno de realce se levarmos em conta que os pulmões contêm a enzima em quantidade apreciável, suplantada, no entanto, pela presente em outros órgãos (COHEN & HEKHUIS [2]). Seria lícito julgar, evidentemente, que no decurso do processo infeccioso em aprêço, em atividade, fôssem mais comuns cifras algo maiores.

2. — O número de casos em relação aos quais verificamos resultados compreendidos na normalidade foi, conforme já referimos, razoàvelmente elevado. Esta constatação poderá ser valiosa, na prática, quando forem suficientemente conhecidos os valores correspondentes a outras pneumopatias, o que permitirá conveniente juízo comparativo.

3. — Não houve nítida relação entre as taxas registradas e o tipo, intensidade do acometimento e duração da doença concernentes aos casos investigados, pelo menos a julgar pelos pacientes considerados; é possível que investigação mais ampla modifique esta maneira de encarar a questão.

4. — Diante do exposto é fácil deduzir que, com a finalidade de avaliar a cura relativa a um determinado caso, a dosagem da taxa sérica de transaminase glutâmico-oxalacética não deverá ser útil, desde que a alta percentagem de valores normais e a pequena alteração correspondente aos demais limitam o uso do citado exame laboratorial. Lògicamente, esta conclusão apenas diz respeito a casos semelhantes aos considerados e não a tôdas as modalidades clínicas de tuberculose pulmonar, assunto sôbre o qual não podemos opinar. Aliás, esta ressalva é válida também em relação aos outros itens explanados.

5. — Lembramos que a determinação das quantidades de transaminase glutâmico-oxalacética no sôro poderá servir para revelar distúrbios de origem tóxica que cheguem a ser causados por medicamentos utilizados no tratamento da tuberculose. Êste problema precisa, evidentemente, ser amplamente estudado, mas a possibilidade mencionada parece-nos merecedora da devida atenção de parte dos especialistas em tal campo de atividades.

6. — É possível que afecções associadas, hepáticas por exemplo, tenham motivado alterações dos valores de transaminase glutâmico-oxalacética nos casos estudados. A cuidadosa avaliação prévia efetuada não evidenciou tais distúrbios que, porém, poderiam estar presentes, sendo revelados por apreciação mais minuciosa. De qualquer forma, esta consideração, perfeitamente oportuna, não deve ter sido válida quanto à generalidade dos pacientes estudados.

As vantagens decorrentes dos progressos recentemente concretizados, do ponto de vista prático, no setor das determinações enzimáticas, precisam ser utilizados com a maior amplitude possível. Esta nossa investigação pretende tão sòmente representar contribuição em relação a tal campo de conhecimentos.

SUMMARY

Determination of glutamic-oxalacetic transaminase levels in serum of patients with pulmonary tuberculosis.

Serum glutamic oxalacetic transaminase levels were determined by the authors in 29 patients with pulmonary tuberculosis. Normal values were found in 37.9 per cent of the cases. Deviations were observed in the remaining cases, but these were not pronounced; the highest level verified in this group was 112 Sigma-Frankel units per ml of serum.

Collection of the blood samples was always performed before starting specific treatment. Various degrees and types of pulmonary involvement were present in the patients studied, the duration of infection being also variable.

Practical inferences related to the results obtained were pointed out by the authors.

REFERÊNCIAS

1. COHEN, P. P. & HEKHUIS, G. L. — Rate of transamination in normal tissues. J. biol. Chem. **140**:711-724, 1941.

2. REITMAN, S. & FRANKEL, S. — A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic piruvic transaminases. Am. J. clin. Path. **29**: 56-63, 1957.

Recebido para publicação em 2 janeiro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):75-77, março-abril 1961

CDU 616.5-002.828-022.33
616.992.282.12 (81)

OCORRÊNCIA DOS DERMATÓFITOS "GEOFÍLICOS" NO SOLO DO RIO GRANDE DO SUL (BRASIL)

A. T. Londero [1] e C. D. Ramos [2]

RESUMO

Os autores relatam o isolamento do *Microsporum gypseum* e do *Keratinomyces ajelloi* do solo em locais sombreados de praças, jardins e pátios, em zona urbana de Santa Maria, no Rio Grande do Sul.

INTRODUÇÃO

Dois são os dermatófitos "geofílicos": *Microsporum gypseum* (= *Nannizia incurvata*) e *Keratinomyces ajelloi* (= *Arthroderma uncinatum*).

O *M. gypseum* foi isolado do solo em todos os continentes [1, 3, 4, 5, 7, 10]. Silva [9], no Brasil, isolou-o de terras do Estado da Bahia.

Êste dermatófito foi encontrado desde a camada superficial do solo até uma profundidade de 30-40 cm [5]. O macroconídeo típico foi verificado pela filtragem de terra através de membrana [8].

O *K. ajelloi*, primeiramente isolado do solo belga por Vanbreuseghen [11], o foi, depois, do solo dos Estados Unidos, Inglaterra e Austrália [2, 4, 6].

MATERIAL E MÉTODOS

Foi feito o estudo de 27 amostras de terra, obtidas na zona urbana da cidade de Santa Maria (Rio Grande do Sul).

A colheita foi feita durante o verão, 5 dias após chuvas. A terra era colhida em placas de Petri esterilizadas. Para o isolamento foi usada a técnica de Vanbreuseghem [12]. Verificado o crescimento nas "iscas", uma porção do micélio aéreo foi inoculada em Sabouraud-glicose 2%-ágar, sem antibióticos.

QUADRO

Isolamento de *Microsporum gypseum* e de *Keratinomyces ajelloi* da amostra de solos, segundo os tipos e condições dos solos, segundo os tipos e condições dos locais.

Locais		Nº de amostras coletadas	Número de amostras positivas para		
Tipos	Nº		*M. gypseum*	*K. ajelloi*	Ao fim de (dias)
Sombreados:					
praças	3	3	3	—	11 a 15
jardins	3	15	5	2*	10 a 20
pátios	3	3	—	1*	18
Ensolarados:					
praças	3	3	—	—	—
jardins	2	2	—	—	—
pátios	1	1	—	—	—
Total	15	27	8	3	10-20

* Isolados de locais onde viviam aves em liberdade.

Fac. Farmácia de Santa Maria, U.S.M. — Rio Grande do Sul.
(1) Professor Catedrático de Zoologia e Parasitologia.
(2) Técnica da Cadeira de Zoologia e Parasitologia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão expostos no quadro.

O *M. gypseum* foi isolado em 8 (29,6%) de 27 amostras do solo; o *K. ajelloi*, em 3 (11,1%).

O *M. gypseum* foi obtido de terras arroteadas, colhidas em praças públicas e jardins largamente sombreados; o *K. ajelloi* em jardins e pátios sombreados onde viviam aves.

As colônias de *M. gypseum*, em Sabouraud-glicose 2%-ágar, apresentaram-se pulverulentas, de côr "café com leite" e sem pigmentação no verso; o *K. ajelloi*, pulverulento, côr creme e verso não pigmentado.

De pontos diferentes de um mesmo local foram isolados ambos os dermatófitos.

O crescimento dos dois fungos nas "iscas" de cabelo é evidente do 10.° ao 20.° dia (Figs. 1 a 4).

Pela primeira vez foram isolados do solo sulriograndense o *M. gypseum* e o *K. ajelloi*.

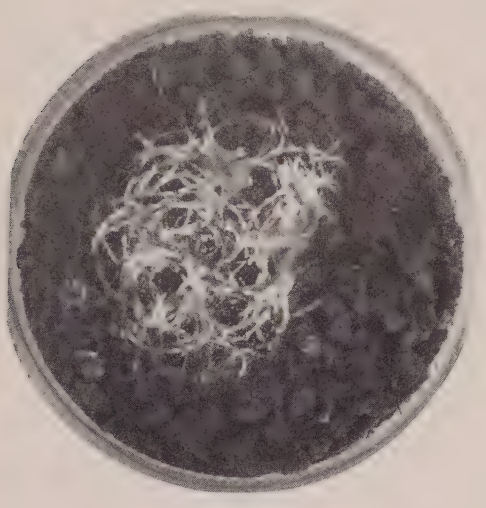


Fig. 1 — Crescimento do *M. gypseum* nas "iscas" de cabelo.

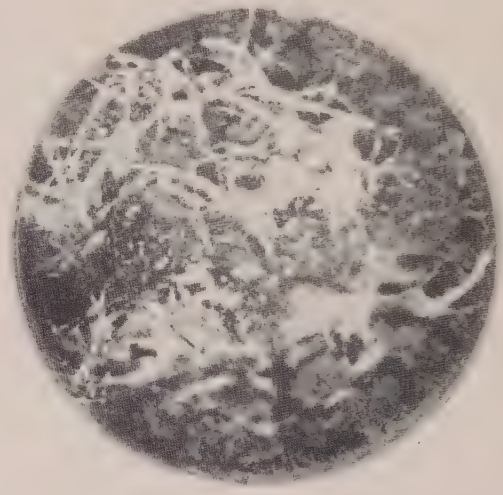


Fig. 3 — Crescimento do *K. ajelloi* nas "iscas" de cabelo.

Fig. 2 — Micromorfologia do *M. gypseum* nas "iscas".

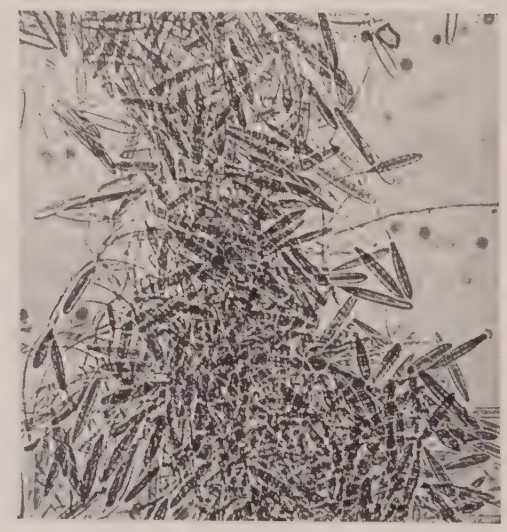


Fig. 4 — Micromorfologia do *K. ajelloi* nas "iscas".

O último, cremos, pela primeira vez no Brasil.

SUMMARY

Occurrence of "geophilic" dermatophytes in the soil of Rio Grande do Sul, Brazil.

The authors report isolation of *Microsporum gypseum* and of *Keratinomyces ajelloi* from the soil of shady places in parks, gardens and patios from the rural zone of Santa Maria, State of Rio Grande do Sul, Brazil.

REFERÊNCIAS

1. AJELLO, L. — Soil as a natural reservoir of human pathogenic fungi. Science **123**: 876-879, 1956.

2. DANIELS, G. — Isolation of *Keratinomyces ajelloi* from soils in Great Britain. Nature, London **174**:224-226, 1954.

3. DOUPAGNE, P. — Isolement de *Microsporum gypseum* du sol et de guano au Congo Belge. Ann. Soc. belge Med. trop. **39**:281-286, 1959.

4. DURIE, A. B. & FREY, D. M. — Isolation of *Microsporum gypseum* and *Keratinomyces* from Australian soil. Nature, London **176**:936, 1955.

5. EVOLCEANU, R. & ALTERAS, I. — Le *Microsporum gypseum*: quelques observations cliniques et mycologiques concernant ce dermatophyte. Mycopath. & Myc. app. **10**: 71-82, 1958.

6. FREY, D. M. & DURIE, E. B. — The isolation of keratinophilic fungi including *Microsporum gypseum* from Australian soil. Australian J. exp. Biol. & med. Sc. **34**:199-204, 1956.

7. FUENTES, C. A.; BOSCH, Z. E. & BOUDET, C. C. — Isolation of *Microsporum gypseum* from soil. A.M.A. Arch. Dermatol. **71**:684-687, 1955.

8. GORDON, M. A.; AJELLO, L.; GEORG, L. K. & ZEIDBERG, L. D. — *Microsporum gypseum* and *Histoplasma capsulatum* spores in soil and water. Science **116**:208, 1952.

9. SILVA, M. E. — Ocorrência do *Cryptococcus neoformans* e *Mycrosporum gypseum* em solos da Bahia, Brasil. Bol. Fundação Gonçalo Moniz (17):1-6, 1960.

10. VANBREUSEGHEM, R. — Un cas d'herpès circiné d'origine tellurique causé par *Microsporum gypseum*. Ann. Soc. belge Med. trop. **40**:409-414, 1960.

11. VANBREUSEGHEM, R. — Intérêt théorique et pratique d'un nouveau dermatophyte isolé du soil: *Keratinomyces ajelloi* gen. nov., sp. nov. Bull. Acad. Roy. Belgique, Classe des Sciences, 5e. série, **38**:1068-1077, 1952.

12. VANBREUSEGHEM, R. — Technique biologique pour l'isolement des dermatophytes du sol. Ann. Soc. belge Med. trop. **32**:173-178, 1952.

Recebido para publicação em 26 março 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):78-80, março-abril 1961

CDU 616.5-002.828-022.33
616.992.282.12 (81)

ISOLAMENTO DO DERMATÓFITO *MICROSPORUM GYPSEUM* DE AMOSTRAS DE TERRA DOS ESTADOS DE SÃO PAULO E MINAS GERAIS (BRASIL)

Raymundo Martins Castro [1]

RESUMO

O *M. gypseum* tem sido encontrado em São Paulo como causador de infecções humanas. No presente trabalho é relatado o isolamento do *Microsporum gypseum* em amostras de solo de São Paulo (Capital e Interior) e Minas Gerais (Interior).

INTRODUÇÃO

Desde a verificação de Ajello [1], o qual, utilizando a técnica de Vanbreuseghem [8], conseguiu isolar o *M. gypseum* da terra, numerosos pesquisadores têm, com êxito, cultivado êsse fungo de amostras do solo.

No Brasil, Silva [7] isolou-o na Bahia, Gonçalves [4], no Estado da Guanabara e Londero & Ramos [5], no Rio Grande do Sul.

Com o propósito de verificar sua ocorrência em terras de São Paulo, Minas Gerais e Distrito Federal, fizemos a presente investigação.

MATERIAL E MÉTODOS

A técnica utilizada foi a de Vanbreuseghem [8], amostras de terra são distribuídas em placas de Petri esterilizadas, cheias até a metade. Fragmentos de cabelos humanos, autoclavados, são adicionados à superfície da amostra de terra, em estudo, à qual adiciona-se água destilada até obter grau satisfatório de umidade.

Havendo crescimento miceliano (Fig. 1) sôbre os cabelos, examinam-se os mesmos microscòpicamente, sendo fácil a identificação do *M. gypseum*, pelo aspecto típico de seus macroconídios (Fig. 2). O isolamento é feito em meio de Sabouraud, adicionado de penicilina, estreptomicina e ciclo-heximida segundo as indicações de Georg [3], onde o fungo se desenvolve, formando colônias características (Fig. 3).

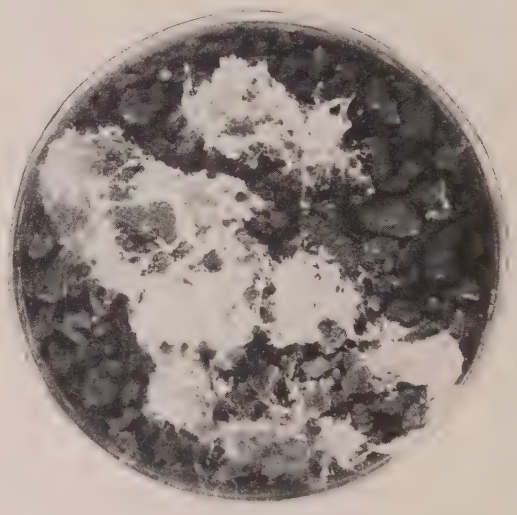


Fig. 1 — Placa com amostra de terra mostrando crescimento de *Microsporum gypseum*, sôbre os cabelos.

Fac. Med. da Univ. São Paulo, Inst. Med. Tropical — Depart. de Microbiologia (Prof. C. S. Lacaz) e Clínica Dermatológica e Sifiligráfica (Prof. S. A. P. Sampaio).

(1) Assistente-doutor do Instituto de Medicina Tropical e Médico-auxiliar da Clínica Dermatológica e Sifiligráfica.

Fig. 2 — Abundante formação de macroconídios de *Microsporum gypseum,* em cabelos expostos à terra.

Fig. 3 — Colônia de *Microsporum gypseum,* isolada de amostra de terra de Santa Bárbara d'Oeste (SP).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com essa técnica, estudamos amostras de treze locais distintos, a saber: 4 de São Paulo, capital; 4 de São Paulo, interior (Casa Branca, Santa Bárbara d'Oeste, Santa Isabel e São José do Rio Prêto); 1 de Belo Horizonte; 3 do interior de Minas Gerais (Cordisburgo, Perdões e Mateus Leme) e 1 de Brasília (DF).

Em material procedente de três localidades pudemos isolar o *M. gypseum,* a saber: São Paulo, capital (Jardim Paulista), São Paulo, interior (Santa Bárbara d'Oeste — zona rural) e Minas Gerais, interior (Cordisburgo, Gruta de Maquiné).

No material estudado não encontramos o *Keratinomyces ajelloi,* outro fungo queratinofílico e geofílico já isolado em nosso país [5]. Constaram, também, de nosso estudo, amostras de solo colhidas em asilos de crianças onde grassavam endêmicamente infecções do couro cabeludo dos menores, por *Trichophyton tonsurans* e *Trichophyton violaceum,* não havendo contudo crescimento dêsses fungos nas placas estudadas.

O *M. gypseum* tem sido encontrado em São Paulo como causador de infecções humanas [2, 6].

Pessoalmente, nos dois últimos anos observamos 6 casos de dermatomicose por êsse fungo, 2 de *Kerion celsi,* 2 de *tinea glabrosa corporis,* 1 de onicomicose e 1 de foliculite do bigode. Num dêles a localização da lesão sugeria infecção de origem telúrica (Fig. 4).

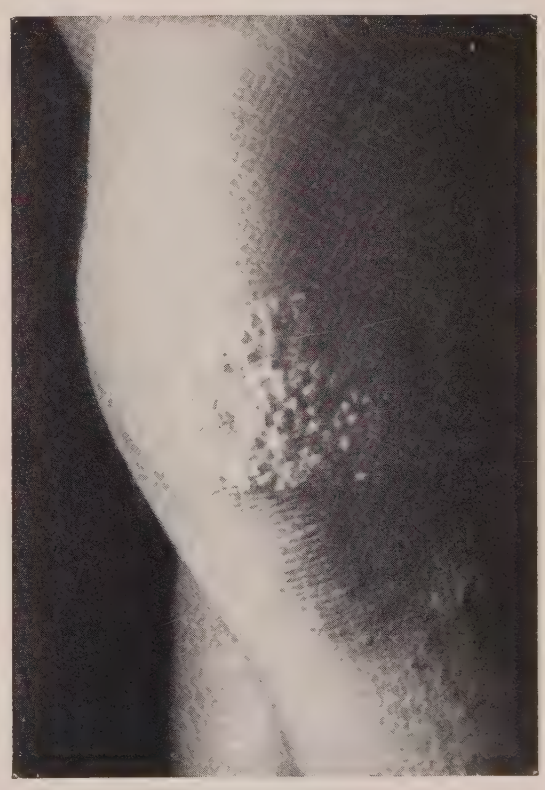


Fig. 4 — Lesão cutânea por *Microsporum gypseum,* possìvelmente de origem telúrica.

SUMMARY

Isolation of the dermatophyte Microsporum gypseum *from soil samples of the States of São Paulo and Minas Gerais, Brazil.*

The isolation of *Microsporum gypseum* in samples of soil of the States of São Paulo and Minas Gerais, Brazil, is related.

ADENDA

Estando o presente trabalho no prelo, isolamos *M. gypseum* de dois menores, irmãos, portadores de tinha da pele glabra. De amostra de terra obtida na residência dos mesmos (bairro do Sumaré, São Paulo, Capital) foi possível isolar o fungo.

REFERÊNCIAS

1. AJELLO, L. — The dermatophyte *Microsporum gypseum,* as a saprophyte and parasite. J. invest. Dermat. **21**:157-171, 1953.

2. CASTRO, A. M. — *Achorium gypseum,* Bodin 1907. An. brasil. Dermat. & Sifil. **14**:1-14, 1939.

3. GEORG, L. K. — Use of a cycloheximid medium for the isolation of dermatophytes from clinical materials. Arch. Dermatol. & Syphilol. **67**:355-361, 1953.

4. GONÇALVES, A. P. — Comunicação à XII Reunião Anual dos Dermatosifilógrafos Brasileiros, Curitiba, 1960.

5. LONDERO, A. T. & RAMOS, C. D. — Ocorrência dos dermatófitos "geofílicos" no solo do Rio Grande do Sul, Brasil. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo **3**:75-77, 1961.

6. ROSSETI, N. — Contribuição para o estudo do *Achorium gypseum,* Bodin 1907. Quatro casos observados em São Paulo. Arq. Dermat. & Sifil. São Paulo **3**:3-45, 1939.

7. SILVA, M. E. — Ocorrência do *Cryptococcus neoformans* e *Microsporum gypseum* em solos da Bahia, Brasil. Bol. Fundação Gonçalo Moniz nº 17:1-6, 1960.

8. VANBREUSEGHEM, R. — Technique biologique pour l'isolement des dermatophytes du sol. Ann. Soc. belge Med. trop. **32**:173-178, 1952.

Recebido para publicação em 30 março 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):81-84, março-abril 1961

CDU 616.5-002.828-022.39
616.992.282.12 (81)

IMPORTÂNCIA DO GATO NA TRANSMISSÃO DO *MICROSPORUM CANIS*, NO RIO GRANDE DO SUL (BRASIL)

A. T. Londero [1], O. Fischman [2] e C. D. Ramos [2]

RESUMO

Os autores ressaltam que o *M. canis* é o agente mais comum das dermatofitoses no interior do Rio Grande do Sul.

Comentam trabalhos sôbre: fonte de infecção humana e animal pelo *M. canis;* reservatórios animais dêste fungo; observações brasileiras sôbre a transmissão da micose do gato ao homem; incidência da micose em zona urbana, em focos familiares; a infecção nos felinos.

Estudam 27 casos de tinha por *M. canis* (entre 125) oriundos do contato com gatos. Vinte e seis casos grupados em 13 famílias; 1 caso verificado entre 53 pessoas que conviveram 12 dias com um gato portador da micose. Fizeram o estudo dos 13 animais, fontes da infecção humana.

Verificaram que: a fonte de infecção mais freqüente para o homem é o gato; só o contato com o animal não explica a totalidade dos casos, o traumatismo é necessário às vêzes; a micose é urbana e surge em focos familiares; as lesões dos animais dependem da idade e de seu estado nutritivo; ao lado do prurido, nunca faltam lesões na cabeça do animal.

Concluem que o gato é a mais importante fonte de infecção do homem pelo *M. canis* no interior do Rio Grande do Sul.

INTRODUÇÃO

O *Microsporum canis*, dermatófito zoofílo, é o agente mais freqüente das dermatofitoses no interior do Rio Grande do Sul [12].

A infecção humana tem origem no contágio com um animal ou um homem doente [1, 4, 7, 8, 13]. Os animais podem contagiar-se em outro animal ou no homem [4, 7, 10, 13].

O *M. canis* tem por "habitat" o gato, o cão e o cavalo [5, 7, 10, 11, 13, 14]. Castro [5] ainda admite o boi e o porco; Georg [7], Kral [11] e Menges & col.[14], o macaco e a chinchila.

Lutz, segundo Silva Araujo, em 1889, observara a transmissão de uma tinha tonsurante do gato ao homem [16]. Rietman [13], na Bahia, em 1927, diagnosticou parasitològicamente a infecção por *M. canis* em um gato. Castro [5], em São Paulo,, em 1928, em 124 observações de tinhas por *M. canis*, descobriu 9 pessoas infectadas por 5 gatos. Moraes [15] isolou êste fungo de gatos no Rio de Janeiro (Guanabara), diagnosticando a infecção nesses animais em Florianópolis (Santa Catarina) e em Viçosa (Minas Gerais). Almeida & col.[3] verificaram o saprofitismo dêste cogumelo em felinos de São Paulo (São Paulo).

O gato é o animal mais comumente registrado como fonte do contágio do *M. canis* para o homem [1, 2, 4, 7, 8, 10, 13, 14]. As tinhas resultantes são familiares [6, 7, 8, 13] e urbanas [7, 8, 13], mas podem ocorrer como pequenas epidemias escolares [1].

Trabalho da Cadeira de Zoologia e Parasitologia da Fac. de Farmácia de Santa Maria (URS).
(1) Professor Catedrático.
(2) Técnicas.

Castro [5], em 5 gatos, verificou: 2 com lesões generalizadas; 2 com lesões só no corpo e, 1 com lesões no corpo e nos membros. As lesões novas eram inflamatórias e com pêlos conglutinados; as velhas, descamativas e não supuradas. Anotou a presença de prurido.

MATERIAL E MÉTODOS

Consta de 27, dentre 125 casos humanos de dermatofitoses por *Microsporum canis*, e as respectivas fontes de contágio — 13 gatos — ambas com comprovação clínica e laboratorial.

Os casos humanos dividem-se em: grupo 1, 26 pacientes encaminhados ao nosso laboratório, fazendo parte de 13 famílias com um total de 76 membros; e, grupo 2, 1 caso surgido num grupo de 53 adultos (alunos e pessoal docente de nossa Cadeira).

Os gatos, em número de 13, pertenciam um a cada uma das 13 famílias. Um dêstes felinos permaneceu em liberdade, durante 12 dias, em nosso laboratório, podendo manter contatos acidentais com alunos e docentes diàriamente.

RESULTADOS

Em 125 casos de tinha por *M. canis* verificamos: *a*) em 53, a impossibilidade de precisar o contágio; *b*) em 17, a transmissão inter-humana; *c*) em 10, contágio a partir de cães; *d*) em 45, contágio por gatos. Dêstes últimos, só em 27 nos foi possível estudar o animal contagiante (Quadro).

QUADRO

Relação entre a localização das lesões e idade dos pacientes com a fonte de contágio, nas 125 dermatofitoses por *M. canis*.

Localização das lesões e idade dos pacientes	Nº de pacientes	Contágio não pôde ser precisado	Fonte de infecção					
			Cão		Gato		Homem	
			Baseado em dados laboratoriais	Baseado em dados clínicos	Baseado em dados laboratoriais	Baseado em dados clínicos	Baseado em dados laboratoriais	Baseado em dados clínicos
Couro cabeludo e pele glabra								
0-10 anos	4	3	—	—	1	—	—	—
11 ou mais	—	—	—	—	—	—	—	—
Couro cabeludo								
0-10 anos	45	35	1	—	1	1	1	6
11 ou mais	—	—	—	—	—	—	—	—
Pele glabra								
0-10 anos	56	14	7	1	16	15	2	1
11-20 anos	9	1	1	—	5	1	1	—
21 ou mais	11	—	—	—	4	1	6	—
Total	125	53	9	1	27	18	10	7

Nos 27 casos observamos:

Grupo 1) 26 pacientes de 13 famílias: *a*) 3 eram adultos, todos do sexo feminino, 23 crianças menores de 14 anos de idade; *b*) as lesões se localizavam no couro cabeludo e pele glabra (2 casos), só no couro cabeludo (1 caso) e só na pele glabra (23 casos), sempre em áreas desprotegidas; *c*) únicas nos adultos, nas crianças somaram de 1 a 59 lesões por pessoa; *d*) o tempo que mantinham o animal na residência variou, entre muitos meses, na maioria, e 15 dias, num caso.

Grupo 2) Nos 53 adultos que conviveram com um gato infectado, 2 mantiveram contatos diários e propositados com o animal. Um dêstes, do sexo feminino, apresentou lesões, em área descoberta da pele, ao 12.° dia. O outro, do sexo masculino, por várias vêzes depôs sôbre os antebraços escamas e pêlos do animal, friccionando-os sôbre a pele, sem infectar-se.

Nos 13 gatos estudados, verificamos: *a*) lesões generalizadas em 4, todos em mau estado geral; *b*) lesões na fronte, nariz e orelhas em um, com estado geral regular; *c*) lesões no nariz e orelhas em 4; *d*) lesões só no nariz em 3; *e*) lesões só nas orelhas em um. Os gatos dos itens *a* e *b* tinham menos de 6 meses de idade; os dos itens *c*, *d* e *e* apresentavam bom estado geral, alguns eram bem cuidados e todos tinham idade superior a 6 meses. As lesões, nunca inflamatórias, consistiam em áreas de alopécia (grandes ou pequenas, únicas ou múltiplas), ou de rarefação dos pêlos e intensa descamação. Em todos os animais havia prurido.

DISCUSSÃO

Buscamos averiguar o papel do gato como fonte de contágio das microspórias por *M. canis*, as mais freqüentes no interior do Rio Grande do Sul.

A micose é adquirida por contato com animal doméstico (cão ou gato) ou com homem infectados. No entanto é o gato a fonte de infecção mais comum para o homem sulriograndense. Identicamente foi verificado na Inglaterra [1, 2] e nos Estados Unidos [4, 7, 8, 13, 14].

O simples contato com o animal explica a maioria dos casos ocorridos em crianças. Cremos que êle deva ser repetido e íntimo, em razão da maior freqüência das lesões em regiões descobertas da pele que, usual e diàriamente, estão em contato com o gato; da não infecção de crianças que acidentalmente manuseiam o animal. Para os adultos julgamos que haja necessidade, além do contato, de um traumatismo da pele. Tal nos sugere as observações dos 4 pacientes adultos, todos do sexo feminino, todos infectados nas pernas, local que é submetido à raspagem dos pêlos e, conseqüentemente, traumatizado. Mais ainda, a deposição de escamas e pêlos infectados de um animal e a fricção sôbre a pele de adulto, em área não traumatizada, não determinou o aparecimento da micose.

Todos os casos de contágio por felinos foram verificados em zona urbana e em focos familiares (domiciliares), em concordância com outros autores [6, 7, 8, 13]. Não vimos, como anotam AINSWORTH & AUSTWICK [2], as pequenas epidemias escolares.

Nos animais infectados as lesões são tanto mais extensas quanto mais desnutrido êle estiver, tal como afirmam AINSWORTH [1] e KRAL [11]; e elas melhoram com a melhoria do estado geral do animal, o que verificamos. Lesões generalizadas só observamos em gatos novos e desnutridos, concordando com os achados de AINSWORTH [1], GEORG [7] e MENGES & col. [13, 14].

Como MENGES & col. [13] e KRAL [11], sempre verificamos lesões na cabeça dos animais doentes. No focinho faltou uma só vez, mas havia nas orelhas. Três gatos não apresentavam lesões nas orelhas, mas as mesmas estavam presentes no focinho. Todos os animais apresentavam prurido.

No Rio Grande do Sul também é o gato a mais importante fonte de infecção das microspórias por *M. canis* no homem.

SUMMARY

Importance of the cat in the transmission of Microsporum canis *in the State of Rio Grande do Sul (Brazil).*

The authors call attention to *M. canis* as the most common agent of tinea infection

in the hinterland of Rio Grande do Sul (Brazil).

They comment some works about: origin of the human and animal infection by *M. canis;* animal reservoirs of this fungus; Brazilian observations on transmission of the fungus from cat to man; the incidence of the mycosis in urban areas restricted to families; feline mycosis.

They study 27 cases of tinea infections by *M. canis*, among 125 diagnosed cases originated from the contact with infected animals. 26 cases in 13 families, and one case verified in a group of 53 persons that lived 12 days with an infected cat. They study the 13 animals spreaders of the infection.

They verified that: the origin of the infection was more frequent from cat; only a close contact with the animal doesn't explain all the cases, trauma sometimes is necessary; animal lesions depend on the age and general nutrition; besides pruritus, lesions on the cat's head were always present.

They concluded that also in the hinterland of Rio Grande do Sul (Brazil) the cat is the most important spreader for the human infection by *M. canis*.

REFERÊNCIAS

1. AINSWORTH, G. C. — Fungoid infections of animals in Britain. Vet. Rec. **66**:844-856, 1954.

2. AINSWORTH, G. C. & AUSTWICK, P. K. C. — A survey of animal mycoses in Britain: general aspects. Vet. Rec. **67**:88-97, 1955.

3. ALMEIDA, F.; SILVA, A. C.; BRANDÃO, C. H.; MONTEIRO, E. L. & MOURA, R. A. — Saprofitismo do *Microsporum canis* em gatos. Rev. Inst. Adolfo Lutz **10**:49-52, 1950.

4. BLANK, F. — Dermatophytes of animal origin transmissible to man. Amer. J. med. Sc. **229**:302-316, 1955.

5. CASTRO, A. M. — Tinhas dos animais domésticos em São Paulo. Arq. Inst. biol. **1**: 201-216, 1928.

6. FERGUSON, E. H. — Epidemic due to *Microsporum canis*. A.M.A. Arch. Dermat. **78**: 506, 1958.

7. GEORG, L. K. — Animal ringworm in public health: diagnosis and nature. Pub. Health Serv. Public. nº 727, 1960.

8. GEORG, L. K.; HAND, E. A. & MENGES, R. W. — Observations on rural and urban ringworm. J. invest. Dermat. **27**:335-353, 1956.

9. GRAY, A.; BOSWORTH, T. S.; DUNCAN, J. T.; GARROD, L. P.; GREGORY, P. H.; INGRAM, S. T.; LA TOUCHE, C. S.; MUENDE, I.; POOL, W. A.; RAMSBOTTOM, C.; WITTSHIVE, S. P. & AINSWORTH, G. C. — Animal reservoir of ringworm infections in Britain. Brit. med. J. **1**:963-966, 1956.

10. KAPLAN, N.; GEORG, L. K. & AJELLO, L. — Recent developments in animal ringworm and their public health implications. Ann. New York Acad. Sc. **70**:636-649, 1958.

11. KRAL, F. — Classification, symptomatology and recent treatment of animal dermatomycosis (ringworm). J. Amer. vet. med. Assn. **127**:395-402, 1955.

12. LONDERO, A. T. & FISCHMAN, O. — Os dermatófitos em Santa Maria (Rio Grande do Sul). Trabalho apresentado ao VI Congresso Brasileiro de Farmácia, Belo Horizonte. 1957.

13. MENGES, R. W. & GEORG, L. K. — Observations on feline ringworm caused by *Microsporum canis* and its public health significance. Proc. Book Amer. vet. med. Assn. **15/18**:471-474, 1955.

14. MENGES, R. W. & GEORG, L. K. — Survey or animal ringworm in the United States. Pub. Health Rep. **72**:503-509, 1957.

15. MORAES, R. G.; GIÓVINE, N. & FREITAS, M. G. — Tinhas de bovinos em Minas Gerais pelo *Favotrichophyton album* (Sabouraud, 1905) Neveau-Lemaire, 1921. Arq. Esc. sup. Vet. Minas Gerais **2**:41-45, 1949.

16. RIETMAN, B. — Sôbre as tinhas na Cidade do Salvador. Bahia, 1927. Tese Fac. Med. Univ. Minas Gerais.

Recebido para publicação em 11 janeiro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):85-90, março-abril 1961

CDU 616.912-07
:616.153.96-073.7

PERFIL ELECTROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS SÉRICAS E PROTEÍNA C-REATIVA NA VARÍOLA

Adhemar M. Fiorillo [1] e Carlos Luiz Campana [2]

RESUMO

Durante um surto epidêmico de varíola no Município de Ribeirão Prêto, foi estudado o perfil electroforético das proteínas séricas, em papel, e o teste da proteína C-reativa em 29 pacientes. Ao todo foram realizadas 43 análises electroforéticas e 35 determinações da proteína C-reativa, em diferentes fases de evolução da doença.

O diagnóstico baseou-se nos caracteres clínicos clássicos; em 3 dos pacientes foi feito o diagnóstico de certeza pelo isolamento do agente etiológico em ôvo embrionado, no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. Foi verificado que o teor da fração albumina não se desvia da faixa normal; que as α_2 globulinas se elevam em freqüência e intensidade nas fases de vesículas e crostas, portanto de exsudação das lesões cutâneas; que o teor das γ-globulinas se eleva em intensidade e freqüência menor que o das α_2 globulinas, nas fases já de recuperação das lesões da pele (de crosta para mácula pós-descamação). A proteína C-reativa tem sua positividade em paralelismo com os achados das globulinas α_2 (freqüência e intensidade maiores na fase de vesículas).

Um paciente com síndrome nefrótica respondeu da mesma maneira que os demais, embora a elevação do teor das γ-globulinas não tenha sido tão evidente como nos outros casos estudados.

INTRODUÇÃO

Já se tentou separar os processos infecciosos em dois grandes grupos: um em que se encontra no hemograma neutrofilia com desvio para a esquerda, e outro em que predomina a linfomonocitose. No primeiro grupo existe aumento do teor das mucoproteínas no sangue e, em conseqüência, elevação das α_2 globulinas no perfil electroforético; nêle predominam os fenômenos exsudativos. No segundo grupo não há elevação das mucoproteínas séricas e, por isso, as α_2 globulinas não estão aumentadas. Como predominam os fenômenos de estímulo e proliferação do SRE, torna-se mais evidente o aumento das globulinas γ. No primeiro grupo ficam situadas as doenças bacterianas agudas, em sua maioria, e no segundo grupo as viroses. No entanto, nas viroses exantemáticas podem existir, na pele, processos exsudativos às vêzes intensos. Pela intensidade dêsses processos, poderíamos esperar achados electroforéticos em doenças do segundo grupo avizinhando-se ou superpondo-se aos do primeiro grupo. Isto é compatível com a varíola. A electroforese foi estudada em alguns casos dessa doença na Índia, por Cohly & col., em 1953, citados por Krishnamurthy [8], que encontraram apenas alterações discretas da fração β. Krishnamurthy [8], em 1956, estudando 40 casos de va-

Fac. de Medicina de Ribeirão Prêto da USP — Departamentos de Clínica Médica e Higiene e Medicina Preventiva.

(1) Assistente do Depart. de Clínica Médica (Prof. H. L. de Oliveira), Secção de Moléstias Infecciosas.

(2) Assistente do Depart. de Higiene e Medicina Preventiva (Prof. J. L. Pedreira de Freitas).

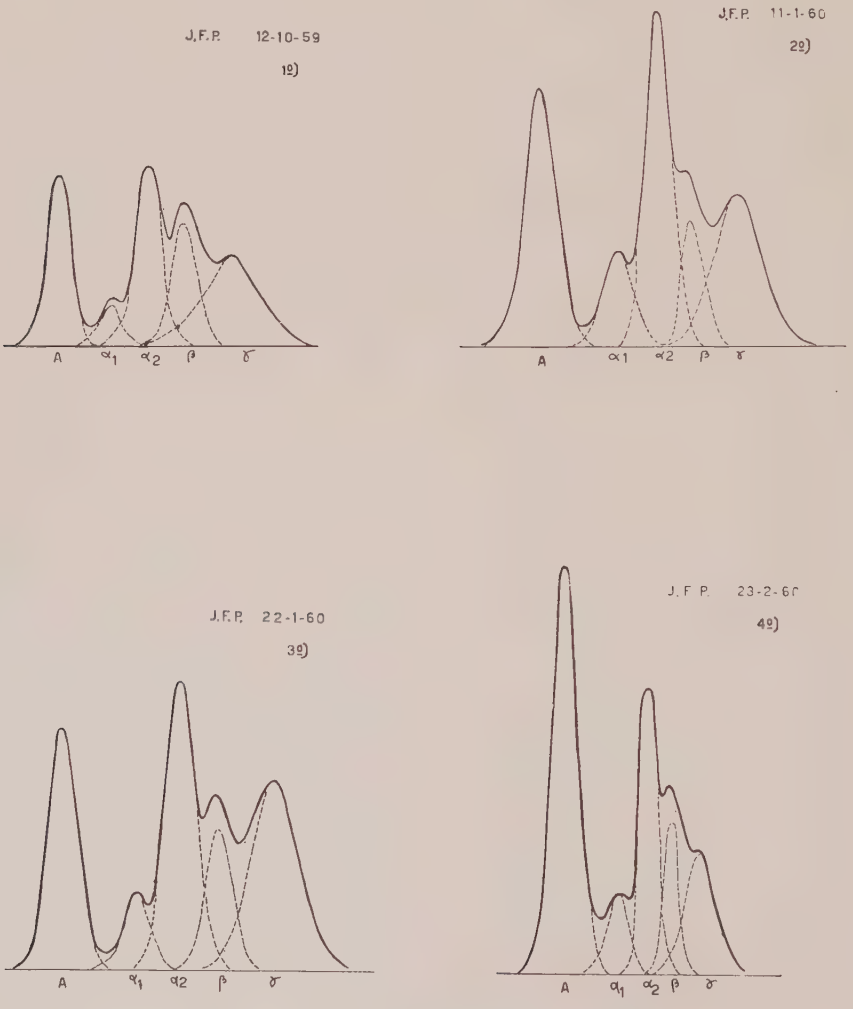
ricela, doença exantemática que muito se aproxima da varíola, achou aumento do teor das α_2 globulinas, além de encontrar aumento do teor das β e γ globulinas; esta última fração estêve elevada em todos os casos.

TIGANO & RUSSO [9], em 1958, estudando o comportamento da proteína C-reativa em várias viroses, acharam: sarampo — 5 positivas em 11; herpes simplex — 2 positivas em 5; mononucleose infecciosa — 2 positivas em 2; varicela — 4 positivas em 4; parotidite epidêmica — 1 positiva em 7; hepatite infecciosa — 2 positivas em 8.

Em virtude do número exíguo de publicações sôbre a varíola, trazendo poucos esclarecimentos no que diz respeito à electroforese das proteínas do sôro e a proteína C-reativa, resolvemos publicar os nossos achados.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudamos 29 pacientes com varíola, de um surto epidêmico ocorrido no Município de Ribeirão Prêto. Englobamos na denominação de varíola as formas clínicas de varíola major, com características clássicas, e a varíola minor ou alastrim, desde que estudos mais recentes confirmam a identidade do agente etiológico de ambas. Dos pacien-



Figs. 1 a 4 — Evolução do perfil electroforético do paciente J.F.P., com síndrome nefrótica: 1º) perfil das fases anteriores ao exantema; 2º) fase de pústulas (7 dias); 3º) fase de crostas; 4º) de máculas pós-descamação. Os valores para as várias frações estão lançados no quadro I.

QUADRO I

Evolução do perfil electroforético do paciente J.F.P. — Valores em g/100 ml de sôro. PT — Proteínas totais.

Datas	PT	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Fases do exantema
12-10-59	4,7	1,14	0,14	1,02	0,69	1,08	Anterior ao exantema
11- 1-60	4,8	1,35	0,45	1,39	0,43	1,15	Pústulas (7 dias)
22- 1-60	5,0	1,12	0,32	1,45	0,60	1,49	Crostas (18 dias)
23- 2-60	4,6	2,10	0,32	0,97	0,46	0,72	Máculas pós-descamação (49 dias)

tes estudados, 15 eram do sexo masculino e 14 do feminino. Foram observados em suas próprias residências 27 doentes; os dois outros estiveram internados no Hospital das Clínicas de Ribeirão Prêto. Em 17 pacientes conseguimos apenas uma amostra de sangue, em fases variáveis do exantema; em 11 outros, foram colhidas duas amostras, em épocas diferentes; em um dos hospitalizados retiramos amostras antes e durante várias fases do exantema.

O diagnóstico da doença foi baseado fundamentalmente em seus caracteres clínicos clássicos. No entanto, enviamos ao Laboratório de Vírus do Instituto A. Lutz de São Paulo o conteúdo de vesículas de 3 de nossos pacientes, a fim de ser isolado e identificado o agente etiológico. Êsse material foi inoculado em membrana cório-alantóide de embrião de galinha, de 8 a 11 dias, resultando positivo para varíola, e o teste executado na pele de coelhos, para a diferenciação com o vírus vacínico foi negativo. A electroforese das proteínas do sôro foi executada em papel-filtro, de acôrdo com o método de GRASSMANN & col.[4]. A leitura fotométrica foi realizada com o aparelho Elphor-H, e o cálculo das áreas das várias frações executado pelo método de HÖXTER [6]. A determinação de proteína C-reativa foi feita com o sôro imune Schieffelin, de acôrdo com a técnica de ANDERSON & MCCARTY [1]. A dosagem das proteínas totais foi feita pelo método do biureto de KINGSLEY [7].

Os valores considerados como normais, para as várias frações, são os obtidos por um de nós (A.M.F.) citados em trabalho anterior [3].

RESULTADOS

Os valores encontrados pelo fracionamento electroforético, em g/100 ml de sôro, assim como os dados relativos ao teste da proteína C-reativa, estão lançados nas Figuras 5 a 8 e no Quadro II.

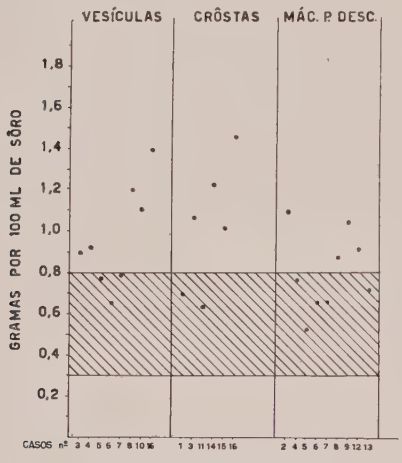
Albumina — A fração albumina estêve em teor abaixo do normal apenas no paciente portador de síndrome nefrótica (J. F.P.), cujos dados serão analisados em separado. Nos demais pacientes, os valores encontrados situaram-se dentro da faixa normal, ao contrário do que sói acontecer em processos infecciosos agudos.

Globulinas α_1 — Encontramos aumento significativo desta fração apenas em 2 casos (R.M.M.A. e M.M.); em um dêles, em fase de máculas pós-descamação, havia uma bronquite aguda concomitante, acompanhada de febre.

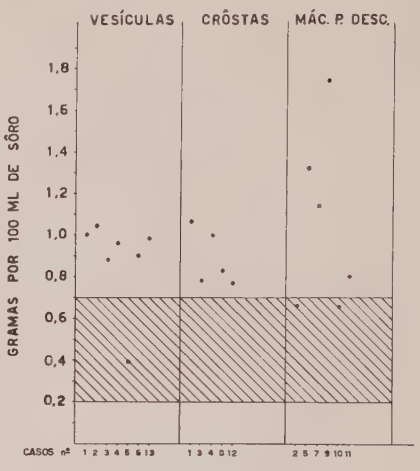
Globulinas α_2 — Esta fração é a que se apresentou mais desviada da faixa de normalidade. Observamos, nos valores lançados nas figs. 5 e 6, que as globulinas α_2, no sexo masculino, estiveram aumentadas 5 vêzes, em 8 determinações, na fase de vesículas; 4 vêzes, em 6 determinações, na fase de crostas; 4 vêzes, em 9 determinações, na fase de máculas pós-descamação. No sexo feminino, estiveram elevadas 6 vêzes, em 7 determinações, na fase de vesículas; 5 vêzes, em 5 determinações, na fase de crostas; 4 vêzes, em 6 determinações, na fase de máculas pós-descamação. Estiveram, portanto, elevadas 28 vêzes no total de 41 determinações, ou seja em 68,2%. No grupo de casos em que fizemos duas determinações, verificamos que o teor elevado tende a cair da fase de vesículas para a de máculas pós-descamação.

Em 2 dêstes casos positivos, na fase de máculas pós-descamação, havia bronquite aguda com febre num dêles e em outro, bronquite crônica afebril.

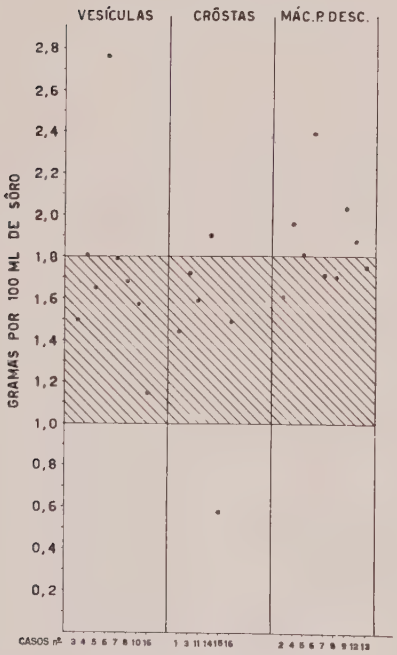
Globulinas γ — No sexo masculino, encontramos aumento da fração γ 1 vez, em 8 determinações, na fase de vesículas; 1 vez, em 6, na fase de crostas; 4 vêzes, em



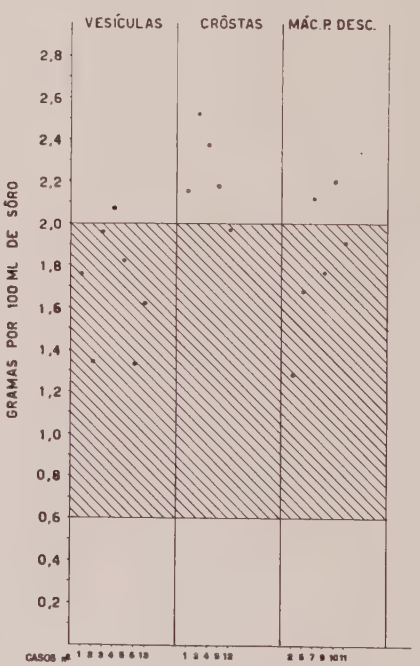
α_2 GLOBULINA - SEXO MASCULINO
FIGURA - 5



α_2 GLOBULINA - SEXO FEMININO
FIGURA - 6



γ GLOBULINA - SEXO MASCULINO
FIGURA - 7



γ GLOBULINA - SEXO FEMININO
FIGURA - 8

Figs. 5 a 6 — Valores das globulinas α_2, nas fases de vesículas, crostas e máculas pós-descamação, em ambos os sexos. A área sombreada corresponde aos limites de normalidade (95%).

Figs. 7 a 8 — Valores das globulinas γ, nas fases de vesículas, crostas e máculas pós-descamação, em ambos os sexos. A área sombreada corresponde aos limites da normalidade (95%).

QUADRO II

Proteína C-reativa nas diversas fases do exantema.

Fases do exantema	Número de determinações	Resultados			
		Positivo			Negativo
		+	++	+++	
Vesículas	13	5	1	5	2
Crostas	9	2	—	—	7
Máculas pós-descamação	13	3	3	1	6

9, na fase de máculas pós-descamação. No sexo feminino achamo-la elevada 1 vez em 7 na fase de vesículas; 4 vêzes, em 5, na fase de crôstas; 2 vêzes, em 6, na fase de máculas pós-descamação (Figs. 7 e 8). No total de 41 determinações, estêve elevada 14 vêzes ou seja em 34,1%. Verificamos nos casos do grupo em que foram feitas duas determinações, que o teor das γ-globulinas tende a se elevar da fase de vesículas para a de máculas pós-descamação.

Os dados do perfil electroforético do sôro do paciente com síndrome nefrótica (J.F.P.) estão lançados no Quadro I e desenhados nas Figs. 1 a 4. Êste paciente estêve internado no H.C. de Ribeirão Prêto. Ao ter licença para visitar familiares, domiciliados na área do surto epidêmico, adquiriu a varíola. Seu perfil anterior à doença exantemática é típico do encontrado na síndrome nefrótica. No entanto, as globulinas α_2, já em teor elevado, sofreram novo aumento nas fases de pústulas e crostas, tendendo aos valores primitivos na fase de máculas pós-descamação. A fração γ começou a elevar-se na fase de pústulas, atingindo valor máximo na fase de crostas, para cair novamente na de máculas pós-descamação.

Proteína C-reativa — Os resultados desta reação estão assinalados no Quadro II. Na fase de vesículas, em 13 determinações, estêve positiva em 11: fracamente (+) em 5; moderadamente (++) em 1; bem positiva (+++) em 5. Na fase de crostas, em 9 determinações estêve negativa em 7 e fracamente positiva em 2. Na fase de máculas pós-descamação, em 13 determinações, estêve negativa em 6; fracamente positiva (+) em 3; moderadamente positiva (++) em 3; bem positiva (+++) em 1. No total de 35 determinações, estêve positiva em 20 ou seja em 57,1%. Verificamos, nos casos do segundo grupo, em que foram feitas duas determinações, que a positividade do teste tende a decrescer da fase de vesículas para a de máculas pós-descamação.

Em 3 casos positivos da proteína C-reativa, havia concomitantemente bronquite em 2 dêles e piodermite no restante.

DISCUSSÃO

A varíola, como a maioria das viroses, não determina alterações pronunciadas no perfil electroforético das proteínas séricas. No entanto, é doença exantemática em que as lesões da pele passam pelas fases de vesículas e pústulas, portanto com fenômenos exsudativos cutâneos mais ou menos intensos. As alterações do perfil, por isso, podem avizinhar-se das encontradas comumente nas doenças de etiologia bacteriana, em relação às globulinas α_2, na fase aguda, e às globulinas γ, nas fases subaguda e crônica: a elevação das α_2 globulinas refletindo o aumento das mucoproteínas sangüíneas na fase exsudativa; o aumento das γ-globulinas espelhando a elaboração crescente dos anticorpos da fase subaguda para a crônica.

Encontramos, pois, nos casos observados nesta epidemia de varíola, um aumento significativo do teor das α_2 globulinas e um aumento menor das γ-globulinas. Nos casos que puderam ser seguidos, verificamos

uma tendência à queda do teor das α_2 globulinas da fase de vesículas para a de máculas pós-descamação e uma tendência ao aumento das γ-globulinas no mesmo sentido. A positividade da proteína C-reativa comportou-se de maneira paralela à das α_2 globulinas. O seguimento mais pormenorizado do perfil electroforético de um paciente com síndrome nefrótica (J.F.P.) sugere, embora indiretamente, que seu organismo deve ter mantido provàvelmente a capacidade de elaborar anticorpos contra uma infecção por vírus, sendo de notar que não se conhece ainda a importância exata do papel da hipo-γ-globulinemia na suscetibilidade dos nefróticos às infecções [5].

SUMMARY

Electrophoretic profile of serum proteins and of C-protein reaction in smallpox.

During the outbreak of a smallpox epidemics in the area of Ribeirão Prêto (SP), the electrophoresis of the serum proteins and the C-protein reaction were performed in material from 29 patients in different stages of the disease.

The diagnosis of the disease was based on the classical clinical picture; in 3 of the patients this diagnosis was confirmed by the culture of virus in the chorio-allantoic membrane of chick embryo.

No change was found in the albumin fraction; the α_2 globulin was increased in the stages of vesicle and crusts, when exsudative reaction of the skin lesions was present. The γ-globulin increased but less than the α_2 fraction, during the recovery of the skin lesions.

The positivity of the C-protein reaction was parallel with the increase of the α_2 globulines (higher frequency and intensity during the vesicle phase).

A patient with nephrosis behaved as the other patients, although the increase of the γ-globulin was not so clear as in the other cases.

AGRADECIMENTOS

Aqui deixamos nossos agradecimentos ao Dr. Luiz Florêncio de Salles Gomes, do Laratório de Vírus do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, pelo isolamento do agente etiológico; aos Drs. Fausto Bergamini, chefe do Centro de Saúde de Ribeirão Prêto e Waldomiro Jorge Ramos, médico do mesmo Centro, pela oportunidade que nos deram de estudar êstes casos.

REFERÊNCIAS

1. ANDERSON, H. C. & McCARTY, M. — Determination of C-reactive protein in the blood as a measure of the activity of the disease process in acute rheumatic fever. Amer. J. Med. **8**:445-448, 1950.

2. DE LUCA, R. & LOMBARDO, G. — Modificazioni proteiche da vaccinazione antivariolosa. Giorn. Mal. infett. Parass. **7**:29, 1955.

3. FIORILLO, A. M. — Estudo electroforético das proteínas séricas na esquistossomíase mansoni, forma hépato-esplênica. São Paulo, 1957. Tese Fac. Med. Univ. São Paulo.

4. GRASSMANN, W.; HANNIG, K. & KNEDEL, M. — Über Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serum Proteine auf Filtrierpapier. Dtsch. Med. Wschr. **76**:333-336, 1951.

5. GROSS, P. A. M.; GITLIN, D. & JANEWAY, C. A. — The gamma globulins and their clinical significance. New England J. Med. **260**:21-27; 72-76, 1959.

6. HÖXTER, G. & MUNGIOLI, R. — Estudos electroforéticos. I. Métodos e técnica. Mem. Inst. Butantan **22**:75-126, 1950.

7. KINGSLEY, G. R. — The determination of serum total protein, albumin and globulin by biuret reaction. J. biol. Chem. **131**:197-200, 1939.

8. KRISHNAMURTHY, V. N. — Paper electrophoresis in chickenpox. Naturwissenschaften **43**:160-161, 1956.

9. TIGANO, F. & RUSSO, G. — La proteina reattiva C in alcune malattie infettive e parassitarie. Giorn. Mal. Infett. Parass. **10**: 793-794, 1958.

Recebido para publicação em 16 novembro 1960.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):91-98, março-abril 1961

CDU 616.993.161 (87)

STUDIES ON VISCERAL LEISHMANIASIS IN VENEZUELA

A. D. F. Amaral[1], J. W. Torrealba [2], C. E. Henríquez [3], W. Kowalenko [4] and P. A. Barrios [5]

SUMMARY

The Authors list all cases of visceral leishmaniasis recorded in Venezuela until 1960, along with the principal data concerning each case. They point out that the available information on kala-azar in Venezuela claimed for additional investigations to elucidate problems not yet studied, chiefly those related to its epidemiology (geographic distribution, transmission and animal reservoirs).

Since October 1960, the Authors are carrying out studies which include the search of human cases and of animal reservoirs and the capture of sandflies. In a survey of canine kala-azar, 112 dogs were examined and 12 (10.7%) were positive for leishmaniae, probably *L. donovani*. The Authors show that, according to their own observations and to those of other workers, kala-azar in Venezuela seems to be similar to the Mediterranean type. They finally point out that in areas where the disease is found, *Phlebotomus longipalpis* is frequently encountered.

INTRODUCTION

Visceral leishmaniasis is known in Venezuela since 1941, when Martínez & Pons [14] reported the first human case found in the State of Guárico (Las Mercedes). These authors emphasize the need for more investigations on that disease, which might be missed on account of the possibility of being confused with Chaga's disease and malaria, common in that part of the country. Potenza & Anduze [20] described the second case from the Puerto de Ciudad Bolívar, diagnosed by histological examination of liver material obtained by viscerotomy. Franco [10] studied the third case, a girl eight years old, from Yagua, State of Carabobo. Misle Peña, Ron Pedrique & Henríquez [15] published a case from the State of Aragua. Barnola & Potenza [2] presented three more autochthonous cases, one from Los Chaguaramitos (State of Guárico), another from Macuto (Federal District) and a third from Mamo (Federal District). A case from Madrid (Spain) was described in the same paper.

Subsequently, Pifano [17] referred that in Venezuela, until 1954, kala-azar had been found in the following places: States of Aragua, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Guárico, Lara and the Federal District. Lizarraga & Gulacsy [12] reported six new cases, all in children: three from the State of Cojedes, two from the State of Carabobo and one from the State of Guárico. Lima Gómez, Wuani & Castillo [11] observed an adult in-

Fac. Med. Univ. de Carabobo (Valencia, Venezuela). Cátedra de Parasitología (Prof. A. D. F. Amaral).

(1) Professor of Parasitology.

(2) Assistant Professor of Parasitology.

(3) Instructor of Parasitology.

(4) Chief, Servicio de Dermatología (Ministerio de Sanidad y Asistencia Social), Edo. Guárico.

(5) Physician, Unidad Sanitaria and Hospital Guárico, San Juan de los Morros (Ministerio de Sanidad y Asistencia Social).

TABLE I

Published cases of kala-azar in Venezuela

No.	Date	Age	Sex	State of origin	Diagnosis	Treatment	Author
1	1941	20 y.	M.	Guárico (Las Mercedes)	Splenic puncture	Neostibosan	Martinez and Pons
2	1942	10 y.	F.	Bolívar (Las Bombitas)	Viscerotomy	—	Potenza and Anduze
3	1945	8 y.	F.	Carabobo (Yagua)	Bone marrow puncture	Emetic (good results)	Franco Palacios
4	1946	18 y.	M.	Aragua	Splenic puncture and autopsy	—	Misle Peña, Ron Pedrique and Henriquez
5	1950	3 y.	F.	Federal District (Mamo)	Bone marrow puncture	Emetic (good results)	Barnola and Potenza
6	1950	22 m.	F.	Federal District (Macuto)	Autopsy	—	Idem
7	1950	3 y.	F.	Guárico (Los Chaguaramitos)	Autopsy	—	Idem
8	1955	7 y.	M.	Cojedes (Potrero Lincero)	Splenic puncture	Emetic and anthiomaline (good results)	Lizarraga and Gulacsy
9	1955	7 y.	F.	Cojedes (La Quesera)	Bone marrow puncture	Emetic. Death (cardiopathia)	Idem
10	1955	21 m.	F.	Cojedes (Tinaquillo)	Smear of peripheric blood	Death before 24 hours of hospitalization	Idem
11	1955	11 y.	F.	Carabobo (Mariara)	Splenic puncture	Emetic, anthiomaline and solustibosan (good results)	Idem
12	1955	2 y.	F.	Carabobo (Paya)	Bone marrow puncture	Anthiomaline and solustibosan (good results)	Idem

TABLE I (*continued*)

No.	Date	Age	Sex	State of origin	Diagnosis	Treatment	Author
13	1955	1 y.	M.	Guárico (El Totumo)	Bone marrow puncture	Anthiomaline. Death (toxicosis)	Idem
14	1956	22 y.	M.	Lara (Curarigua)	Splenic puncture	Solustibosan (good results)	Lima Gómez, Wuani and Castillo
15	1958	15 y.	M.	Carabobo (Belén)	Bone marrow puncture	Emetic (good results)	Pineda
16	1958	13 m.	F.	Guárico (S. José de Tiznados)	Bone marrow puncture	Neo-antimoson. Death (complications)	Pineda
17	1959	28 y.	M.	Falcón (Pueblo Nuevo)	Bone marrow puncture, spleen material	—	Bemerqui and Pirela
18	1960	2 y.	M.	Zulia (Campo Barúa)	Sternal biopsy; splenic puncture	Glucantime. Death (complications)	Núñez Montiel and Mayz Vallenilla

TABLE II

Cases only referred by Pifano [17]

No.	Date	Age	Sex	State of origin	Diagnosis	Treatment	Author
19	1952	20 y.	...	Lara (El Tranquero)	Bone marrow puncture	—	Zapata and Figueroa
20	1953	8 y.	M.	Lara (Las Casitas)	Bone marrow and hepatic puncture	—	Zapata and Zubillaga
21	1953	1½ y.	M.	Lara (Monte-Cristo)	Bone marrow puncture	—	Álvarez and Zapata

fected in the State of Lara. PINEDA [18] described two new cases from the State of Guárico and BEMERQUI & PIRELA [4] published one from the State of Falcón. Finally NÚÑEZ MONTIEL & MAYZ VALLENILLA [16] reported the case of a boy two years old, from the State of Zulia.

In Table I we list the 18 autochthonous cases of kala-azar published in Venezuela, from 1941 to 1960, and give the principal data concerning each (date, age, sex, origin, methods of diagnosis, treatment, author). In Table II three more cases are listed, which were not the subject of detailed publications, but are referred in the paper of PIFANO [17]. So, according to the Venezuelan bibliography, until 1960, twenty-one human cases of autochthonous visceral leishmaniasis were known. Their distribution by State is as follows:

Guárico	4
Carabobo	4
Lara	4
Cojedes	3
Federal District	2
Bolívar	1
Aragua	1
Falcón	1
Zulia	1

The finding of new cases, practically every year since 1941, indicated that the disease deserved more attention. So we started studies on the subject, chiefly with the purpose of clarifying its actual importance in Venezuela.

The data on the geographical distribution of kala-azar in Venezuela, which we could get from previous publications, made it advisable to start our studies in one of the three States where its incidence seemed to be higher, and of those it was in Guárico that we found adequate facilities. Therefore, it was in the Distrito Roscio, of this State, that we started our surveys in October 1960. In this first paper we present the program of our studies and the first results obtained. These studies aim to clarify some hitherto unsolved problems on the epidemiology of the disease in Venezuela, such as its geographical distribution, non-human reservoirs and transmission.

Our investigations are being undertaken in different villages (pueblos, caseríos), mostly in Distrito Roscio, and include: 1) search for human cases; 2) search for non-human reservoirs; 3) capture of sandflies; 4) taxonomy and biology of sandflies, and 5) search for natural infection among these insects and observations on their experimental infection.

SURVEY ON CANINE KALA-AZAR

The importance of the domestic dog as a reservoir of *L. donovani* in other endemic regions of kala-azar is well known.

In South America, recent studies in various endemic foci in Brazil have emphasized the importance of that animal in the maintenance of the endemy (DEANE [9], BRENER [5], ALENCAR [1]).

So, adequate examination of these animals has been one of our principal aims.

At first we looked for a method which would permit the examination of a maximum number of dogs in a short time, without danger of death or with the minimum possible risk, in order to avoid their owners' objections, because, to the "campesino", the dog is not only a pet, but also a very useful animal in watching over his "rancho" (house), his "conuco" (plantation), and following him in his hunting expeditions.

In our experience, the best way to reach this end is to submit the animal to a general anesthesia before proceeding to the examinations. In field conditions, this anesthesia may be easily performed by using and intraperitoneal injection of nembutal (sodium pentobarbital), in a dosis of, approximately, 30 mg per kilogram of body weight. We use to dissolve the drug in sterile saline to a concentration of 25 mg per milliliter.

In an adequate card the animal is identified as to name, sex, color, name and address of the owner, and the results of a clinical examination, particularly as to suspicious cutaneous lesions which are duly recorded.

To examine the dogs of a "caserío" (village), we usually assemble most of them in

Figure — Anaesthetized dogs in a yard.

one place (for instance, the yard of a countryman's house, as shown in Figure) and proceed to the general anesthesia of all the animals. The dogs fall asleep within a few minutes to half an hour. The anesthesia lasts from about 30 minutes to 4 hours.

During this interval, one or various persons, consecutively or simultaneously, can proceed to the examinations. After trying different procedures, we selected the following ones:

1) *Bone marrow puncture* — At the beginning, the puncture was made at the level of the sternum. But, as the sternal puncture of dogs presents some difficulties, we replaced it, with good results, by the tibial puncture, performed at the level of the upper extremity of this bone, approximately one finger below the femoro-tibial articulation (CABASSU [6]), using a needle provided with a mandrel, the type employed for sternal puncture in human adults. The bone marrow material is aspirated with a 20 ml syringe, previously washed in sterile saline, to avoid precocious coagulation of blood, which would prevent the making of good smears.

2) *Hepatic puncture* — This is made according to the classical technique used by the authors who have studied canine kala-azar, as described by DEANE [9].

3) *Skin biopsy of the ear* — After cutting the hairs, a fragment of skin approximately 1 cm^2 is cut from the tip of the ear; the blood from the piece is dried with filter paper; by apposition a smear is made on a slide, with the cut surface on the fragment. The hemorrhage that supervenes at the level of the biopsed ear may be checked by an incandescent platinum loop. It seems necessary to emphasize that these hemorrhages are more conspicuous when the animal presents lesions peculiar to the disease (nodules, edema, infiltration). The fragment of tissue used for the smear is afterwards put in formalin solution (10%) for posterior histopathological examination.

4) *Thick blood films* — At the beginning we made the thick film by collecting blood flowing from the surface of the biopsed ear. As conspicuous hemorrhages hinder the making of a good smear, we now use the following procedure: before cutting the ear is pricked at its tip with the teeth of

a Kocher's or another forceps provided with teeth; pressing the ear at this place, drops of blood flow and may be easily collected on a slide. Of course, thick blood films are made in order to look for possible infections with *Trypanosoma cruzi* or *T. rangeli*.

All the bone marrow, skin and liver smears, were fixed by methanol and stained by Giemsa. The thick blood films were directly stained. The biopsed ear fragment was included in paraffin and the sections stained by hematoxylin-eosin.

Each smear was examined systematically for 10 minutes; when negative, other smears of the same material were examined for another five minutes.

The positive dogs were transferred to the laboratory for observation.

From some of the positive dogs, bone marrow material was planted in modified N.N.N. medium, and definite development of leptomonal forms was seen in three instances, indicating that we were dealing with a parasite of genus *Leishmania*. More details on the cultures obtained from these dogs will be given in another note (TORREALBA *et al.*[21]).

Up to now 112 dogs were examined and 12 of them (10.7%) were positive for leishmaniae, probably *Leishmania donovani*.

On Table III we include the 12 positive dogs and the methods of examination, in order to compare the results obtained by each method.

TABLE III

Parasites in bone marrow liver and skin smears of dogs with kala-azar

Dog No.	Positivity in:		
	Bone marrow	Liver	Skin (smear of ear)
42	+	+	—
61	+	—	—
79	+	—	—
83	+	+	+
86	+	+	—
87	+	+	+
89	+	—	+
91	+	+	—
100	+	—	+
101	+	—	+
107	+	+	+
110	—	—	+
Total positives	11	6	7
Percent positives	91.6	50.0	58.3

HUMAN CASES

During our surveys, from October to December 1960, six new human cases of kala-azar were studied (BARRIOS *et al.*[3]): four were children below 5 years of age; one was a girl 10 years old and one was an adult. As regards age distribution, kala-azar in Venezuela is similar to the type observed in the Mediterranean, as shown by our own few observations and those previously published by other workers (see Tables I and II).

SANDFLIES

Various captures have been made in the areas where we found human and canine kala-azar. The insects collected are being studied. It seems interesting, however, to point out that in those areas, *Phlebotomus longipalpis* is frequently found. As this species is related with the transmission of kala-azar in other regions of South America (CHAGAS, CASTRO & FERREIRA[7]; CHAGAS, FERREIRA, DEANE *et al.*[8]; MANGABEIRA[13]; PONDÉ, MANGABEIRA & JANSEN[19]; DEANE[9]) it will be the subject of detailed studies to be presented in future notes.

RESUMO

Após um histórico dos estudos realizados sôbre o calazar na Venezuela até 1960, os autores apresentam o programa das pesquisas que vêm efetuando no país a partir de outubro daquele ano e que compreendem a procura de casos humanos e de reservatórios animais e capturas de flebótomos.

Descrevem um inquérito de calazar canino, em que examinaram 112 cães, encontrando 12 (10,7%) positivos para leishmânias, provàvelmente de *L. donovani*. Segundo suas próprias investigações e as de outros pesquisadores, o calazar na Venezuela parece com o que ocorre no Mediterrâneo. Chamam, por fim, a atenção para o encontro freqüente, nas zonas endêmicas venezuelanas, do *Phlebotomus longipalpis*, espécie relacionada com a transmissão do calazar em outros focos da região neotropical.

RESUMEN

En esta nota los autores hacen primero un histórico de los estudios sobre el Kala-azar en Venezuela, desde 1941 hasta 1960. En seguida presentan el programa de estudios que vienen desarrollando desde Octubre de 1960: búsqueda de casos humanos; búsqueda de reservorios extra humanos; capturas de flebotomos para diferentes investigaciones. Relatan una encuesta sobre Kala-azar canino, en que observaron 112 perros con el encuentro de 12 positivos (10,7%) para formas de leishmania, probablemente de la *L. donovani*. Según sus propias investigaciones y las de otros observadores, el Kala-azar en Venezuela se parece al que ocurre en el Mediterráneo. Finalmente, llaman la atención para el encuentro frecuente en las zonas endémicas, de *Phlebotomus longipalpis*, que, en ciertos focos de Kala-azar de la Región Neotropical, se ha mostrado tener relación con la transmisión de esta enfermedad.

REFERENCES

1. ALENCAR, J. E. — Calazar canino: contribuição para o estudo da epidemiologia do calazar no Brasil. Fortaleza, 1959. Tese Fac. Med. Univ. Ceará.

2. BARNOLA, J. & POTENZA, L. — Leishmaniasis visceral infantil en Venezuela. Arch. venez. Puer. & Pediatr. 13:5-16, 1950.

3. BARRIOS, P. A.; KOWALENKO, W.; AMARAL, A. D. F.; TORREALBA, J. W. & HENRÍQUEZ, C. E. — Algunos aspectos sobre clínica, diagnóstico y terapéutica de 6 casos humanos de kala-azar. [no prelo]

4. BEMERQUI, A., A. & PIRELA, L. S. — Un nuevo caso de kala-azar en Venezuela. Rev. Soc. méd.-quir. Zulia 33:39, 1959.

5. BRENER, Z. — Calazar canino em Minas Gerais. Belo Horizonte, 1957. Tese Fac. Med. Univ. Minas Gerais.

6. CABASSU, H. — La leishmaniosis spontanée du chien: recherches sur les signes cliniques et le diagnostic. Paris, 1933. Tese.

7. CHAGAS, E.; CASTRO, G. O. & FERREIRA, L. C. — Leishmaniose visceral americana. IX. Considerações sôbre a leishmaniose visceral americana. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 32:321-385, 1937.

8. CHAGAS, E.; FERREIRA, L. C.; DEANE, G.; DEANE, L. & GUIMARÃES, F. N. — Leishmaniose visceral americana. II. Estudos epidemiológicos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 33:89-229, 1938.

9. DEANE, L. M. — Leishmaniose visceral no Brasil: estudos sôbre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, 1956. Tese Fac. Med. Univ. São Paulo.

10. FRANCO PALACIOS, M. — Kala-azar infantil en el Edo. Carabobo, Venezuela. Rev. Policlín. Caracas 14:526-531, 1945.

11. LIMA GÓMEZ, O.; WUANI, H. & CASTILLO, F. E. — Kala-azar en Venezuela: revisión a propósito de una nueva observación. Acta méd. venezol. 4:27-34, 1956.

12. LIZARRAGA, J. & GULACSY, Z. — Seis casos de kala-azar infantil en el Pabellón de Niños "Luisa Cáceres de Arismendi", de Valencia. Jorn. nacion. Puer. & Pediatr., 2ª, Valência, 1955. 2:693-711.

13. MANGABEIRA fº, O. — 11ª contribuição ao estudo dos *Flebotomus* — *Flebotomus oswaldoi* Mangabeira, 1942. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 37:287-295, 1942.

14. MARTINEZ NIOCHET, A. & PONS, A. — Primer caso de kala-azar en Venezuela. Gac. méd. Caracas 48:329-332, 1941.

15. MISLE PEÑA, P.; RON PEDRIQUE, M. & HENRÍQUEZ C., R. — El tercer caso de kala-azar descrito en Venezuela. Gac. méd. Caracas **54**:44-48, 1946.

16. NÚÑEZ MONTIEL, A. E. & MAYZ VALLENILLA, O. — Kala-azar infantil en el Estado Zulia: primer caso. Arch. venezol. Puer. & Pediatr. **23**:71-95, 1960.

17. PIFANO, F. — Estado actual del kala-azar en Venezuela. Arch. venezol. Patol. trop. & Parasitol. **2**:213-219, 1954.

18. PINEDA, T. — Sobre dos casos de leishmaniasis visceral (kala-azar). Comunicación previa. Rev. cient. Col. Méd., Guárico **1**: 73-77, 1958.

19. PONDÉ, R.; MANGABEIRA fº, O. & JANSEN, G. — Alguns dados sôbre a leishmaniose visceral americana e doença de Chagas no Nordeste brasileiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **37**:333-352, 1942.

20. POTENZA, L. & ANDUZE, P. — Kala-azar en el Estado Bolívar. Rev. Policlín. Caracas **11**:312-317, 1942.

21. TORREALBA, J. W.; AMARAL, A. D. F.; HENRÍQUEZ, C. E.; KOWALENKO, W. & BARRIOS, P. A. — Observaciones iniciales sobre el perro (*Canis familiaris*), como reservorio de kala-azar en Venezuela. [no prelo]

Recebido para publicação em 9 janeiro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(2):99-102, março-abril 1961

CDU 616.993.12-08

Registro de Casos e Experiência Terapêutica

TRATAMENTO DA AMEBÍASE INTESTINAL PELO SULFATO DE PAROMOMICINA

Cecília Magaldi [1], Vicente Amato Neto [2] e João Alves Meira [3]

RESUMO

Usando o sulfato de paromomicina, antibiótico isolado de culturas de *Streptomyces*, os autores trataram 20 pacientes com amebíase intestinal, em suas formas crônica, oligossintomática e assintomática. Empregando a dosagem de 25 mg/kg de pêso, nas 24 horas, em um prazo de 5 dias, verificaram cura parasitológica em 95% dos casos, não tendo sido constatados importantes efeitos colaterais.

INTRODUÇÃO

Em virtude da elevada incidência da amebíase intestinal em nosso meio e dos problemas relacionados à terapêutica dessa parasitose, o aparecimento de novos agentes destinados a combatê-la desperta sempre a atenção e o interêsse de pesquisadores e clínicos. A experiência com esquemas terapêuticos antiamebianos e sua posterior adoção devem basear-se em critérios que permitam estabelecer um medicamento de escolha. Assim, a eficácia, sob o ponto de vista clínico e parasitológico, de uma droga a ser ensaiada, nas várias formas da amebíase intestinal, o tempo de tratamento, o modo de administração, a toxicidade, a tolerância, o espectro de ação e o custo, são, a nosso ver, aspectos a serem considerados.

A paromomicina figura entre os antiamebianos recentes; é um antibiótico inabsorvível pelo tubo gastrintestinal, isolado de culturas de *Streptomyces* e empregado sob a forma de sulfato [4].

Várias pesquisas de ordem experimental e clínica têm sido realizadas com êsse novo antibiótico.

Thompson & col.[9], através de experiências "in vitro" e em animais de laboratório, concluíram que a paromomicina age direta e intensamente sôbre a *Entamoeba histolítica*, evidenciando, a par de atividade antibacteriana entérica e antiamebiana, baixa toxicidade.

Lopez-Elias & Oliver-Gonzalez [7], por seu turno, trataram 20 pacientes adultos, que eliminavam cistos de *E. histolytica* nas fezes, com doses de 4 a 20 mg/kg de pêso, diàriamente; em todos os casos obtiveram negativação dos exames de contrôle, por períodos longos, de até 90 dias, tendo podido verificar, outrossim, toxicidade quase nula da droga, pela administração oral.

Setenta e nove pacientes, de 2 a 30 anos de idade, doentes mentais e portadores de

Fac. Med. da Univ. São Paulo — Clínica de Doenças Trop. e Infectuosas (Prof. J. A. Meira).
(1) Assistente extranumerário.
(2) Docente Livre.
(3) Professor Catedrático.

amebíase intestinal, foram tratados por CARTER [3], com doses de 5 a 30 mg/kg de pêso, por dia, durante 1 a 5 dias. De 49 pacientes que receberam doses de 12,5 ou mais mg/kg de pêso, durante 5 dias, 44 passaram a não mais eliminar o parasito nas fezes, logo após a instituição da terapêutica. Em nenhum dêles foram constatados efeitos colaterais dignos de registro.

As verificações efetuadas por HUGNOT & col.[6], empregando o sulfato de paromomicina, na dose de 8 comprimidos de 125 mg, nas 24 horas, em duas tomadas, durante 5 dias, para adultos, e de 20 mg/kg de pêso, por dia, quanto às crianças, foram as seguintes: ótima tolerância, ação rápida, tratamento de curta duração, eficácia quase constante (2 insucessos em 50 casos tratados) e conservação da flora intestinal saprófita. Por outro lado, os autores citados obtiveram resultados nem sempre favoráveis, ao empregarem o antibiótico no tratamento da giardíase.

Na Argentina, WAKS [10] administrou o sulfato de paromomicina a 48 casos confirmados de amebíase, cuja distribuição etária variou de 7 a 68 anos. As fezes eram examinadas pelos métodos de Faust e col. e direto, diàriamente, durante 20 dias e as pesquisas parasitológicas prosseguiram cada 15 dias, durante 6 meses. A dose para adultos foi de 150 mg três vêzes ao dia, após as refeições, durante 5 dias e, para as crianças, proporcionalmente reduzida. Segundo comunicação prévia do autor, os resultados conseguidos mostraram que, em 39 pacientes, a ameba desapareceu das fezes num prazo de 6 a 10 dias, e em 6 outros, após 15 dias. Os três restantes receberam uma segunda série, havendo negativação ao contrôle parasitológico. O último doente não foi beneficiado por três séries de tratamento. Náuseas, vômitos, diarréia, exantema petequial e dores articulares ocorreram em 6 casos. Não foram verificados, todavia, efeitos tóxicos para o lado da crase sangüínea e rins.

BELL & WOODRUFF [2] empregaram a droga em 20 pacientes que apresentaram cistos de *E. histolytica* nas fezes; a dosagem usada foi de 30 mg/kg de pêso, nas 24 horas, durante um período de 10 dias. Entre 14 pacientes, o tempo médio para o desaparecimento dos cistos foi de 3,7 dias. Dezenove pacientes foram controlados durante 1 até mais de 12 meses, após o término do tratamento e apenas 1 continuou positivo, ao exame parasitológico. Quanto à tolerância, os autores constataram diarréia em 6 casos e ausência de efeitos nefrotóxicos ou alterações hematológicas.

SHAFEI [8], no Egito, em uma série de 19 casos, usando doses de 20 mg/kg de pêso, durante 7 dias, em 10 casos, e de 10 mg/kg de pêso, durante 9 dias, em 9 outros, obteve 70% de cura.

Outra investigação foi efetuada por DOONER [5], no Chile, que tratou 15 casos de disenteria amebiana com 21 mg/kg de pêso, por dia, durante 5 dias; em 11 pacientes que voltaram para contrôle, 1 a 3 meses após o tratamento, foi comprovada a cura clínica e parasitológica.

Em vários centros (Inglaterra, Estados Unidos da América do Norte, Pôrto Rico, Honduras, Nicarágua, África do Sul, México e Filipinas), tem sido investigada a ação da paromomicina, em doentes com amebíase oligossintomática ou aguda, em eliminadores crônicos de cistos e em portadores sãos. Os casos estudados variaram desde indivíduos bem nutridos, de nível econômico elevado, até anêmicos e desnutridos, de localidades subdesenvolvidas. Os resultados de tais pesquisas mostraram ter sido mais adequado o esquema de tratamento com doses de 15 a 25 mg/kg de pêso, por dia, durante 5 dias [3].

Na Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. João Alves Meira), onde problemas dessa natureza são estudados com interêsse, tivemos a oportunidade de investigar a ação do sulfato de paromomicina. A publicação do presente trabalho permite-nos apresentar os primeiros resultados obtidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Administramos o sulfato de paromomicina a 20 pacientes com amebíase intestinal, cujas idades variaram de 4 a 36 anos. A parasitose foi prèviamente comprovada através de exames de fezes realizados pelos métodos direto, de Faust e col., de Willis e de Hoffmann, Pons e Janer. Sob o ponto de vista clínico, 10 pacientes apresentavam a forma crônica da parasitose, 7 eram oligossintomáticos e 3 assintomáticos. A dose de paromomicina empregada foi a de 25 mg/kg de pêso, por dia, em todos os casos, durante 5 dias, sendo administradas cápsulas de 250 mg, em 2 até 6 tomadas, após as refeições.

Os contrôles foram efetuados, em cada caso, realizando-se, de início, um exame parasitológico de fezes formadas, pelo método de Faust e col., preferentemente, além das outras técnicas já mencionadas em alguns, num período que variou de 2 dias até 6 meses, após suspensão do tratamento. Em seguida, foi praticado exame parasitológico após coloração pela hematoxilina férrica, com fezes obtidas depois de administração de purgativo salino, prèviamente fixadas pelo líquido de Schaudinn, segundo AMARAL & MAYRINK [1]. Êste segundo contrôle parasitológico foi realizado desde 8 até 72 dias em relação à época correspondente ao término do uso da medicação.

RESULTADOS

Ao lado da melhoria dos sintomas clínicos que, com exceção de um caso com blastomicose sul-americana retal associada, não eram exuberantes, pudemos verificar, por êsses contrôles, cura parasitológica em 95% dos casos; em apenas 2, portanto, persistiu a positividade relativa à *E. histolytica*, após a terapêutica específica. Não instituímos uma segunda série de tratamento. Quanto à tolerância, foram referidas diarréia leve em 5 casos, diarréia moderada em 4 e cólicas abdominais com diarréia em 2. Essas queixas cessaram findo o emprêgo da medicação. Nove pacientes (45%) não apresentaram qualquer sintomatologia gastrintestinal ou de outra natureza como conseqüência do tratamento.

COMENTÁRIOS

De acôrdo com o que anteriormente expusemos em relação aos contrôles e resultados, interessamo-nos apenas pela avaliação da eficácia do sulfato de paromomicina sòmente em casos crônicos de amebíase intestinal, uma vez que, em nossa série, não empregamos a droga na forma disentérica ou extra-intestinal da doença. Nestas observações não nos propusemos, outrossim, a estudar a eventual ação curativa do medicamento em aprêço no que concerne a outras parasitoses e infecções bacterianas intestinais. Com o esquema terapêutico adotado, não obtivemos percentagem de cura integral, assemelhando-se então a paromomicina, neste particular, a uma série de outros agentes antiamebianos já conhecidos e de uso corrente.

Lembrando os itens que devem nortear, de acôrdo com os conhecimentos atuais, o emprêgo de drogas eficazes contra a amebíase, podemos concluir que a paromomicina satisfaz a vários dêsses requisitos, sendo, entretanto, pelo menos até o momento, de alto custo, fato êste digno de registro se atentarmos para a ocorrência de elevado número de pacientes de parcos recursos, com a parasitose, em determinados países.

SUMMARY

Treatment of intestinal amebiases with sulphate of paromomycin.

Using the paromomycin sulphate, an antibiotic isolated from *Streptomyces* cultures, the authors treated 20 patients with chronic, mild and asymptomatic intestinal amebiasis. Employing a dosage of 25 mg./kg. of body weight, in 24 hours, for 5 successive days, they obtained parasitologic cure in 95% of the cases, no important side effects having been observed.

AGRADECIMENTOS

"Humatin" é a marca comercial de Parke. Davis & Co. para o sulfato de paromomicina. A essa firma, que forneceu o referido medicamento para a realização dêste estudo, consignamos nossos agradecimentos.

REFERÊNCIAS

1. AMARAL, A. D. F. & MAYRINK, W. — Diagnóstico de protozoários intestinais. II. Modalidade prática para o emprêgo do fixador de Schaudinn. Apresentado ao Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina em 4 de abril de 1957.

2. BELL, S. & WOODRUFF, A. W. — Humatin in intestinal amebiasis. Amer. J. trop. Med. **9**:155-157, 1960.

3. CARTER, C. H. — Paromomycin (Humatin) in the treatment of intestinal amebiasis: a preliminary dose-range study. Antibiotic Med. **6**:586-588, 1959.

4. COURTNEY, K. O.; THOMPSON, P. E.; HODGKINSON, R. & FITZSIMMONS, J. R. — Paromomycin as a therapeutic substance for intestinal amebiasis and bacterial enteritis. Antibiotics Annual, p. 304-309, 1959/1960.

5. DOONER, H. — Paromomycin in the treatment of intestinal amebiasis. J. infect. Dis. [no prelo].

6. HUGONOT, R.; DELONS, S. & FULCRAND, G. — Traitement de l'amibiase intestinale par un antibiotique non résorbable. Le sulfate de paromomycine. Presse méd. **68**:439-446, 1960.

7. LOPEZ-ELIAS, F. & OLIVER-GONZALEZ, J. — Treatment of intestinal amebiasis with paromomycin (Humatin). Antibiotic Med. **6**:584-585, 1959.

8. SHAFEI, A. Z. — The treatment of amebic dysentery with paromomycin: A preliminary report. Antibiotic Med. **6**:275-278, 1959.

9. THOMPSON, P. E.; BAYLES, A.; HERBERT, S. F.; OLSZEWSKI, B. & MEISENHELDER, J. E. — Antiamebic and antitrichomonal studies on the antibiotic paromomycin (Humatin) in vitro and in experimental animals. Antibiotics & Chemother. **9**:618-626, 1959.

10. WAKS, J. — Aspectos clínicos experimentales sobre el sulfato de humatín y su actividad amibicida. Comunicación prévia. Semana méd. **115**:1075-1076, 1959.

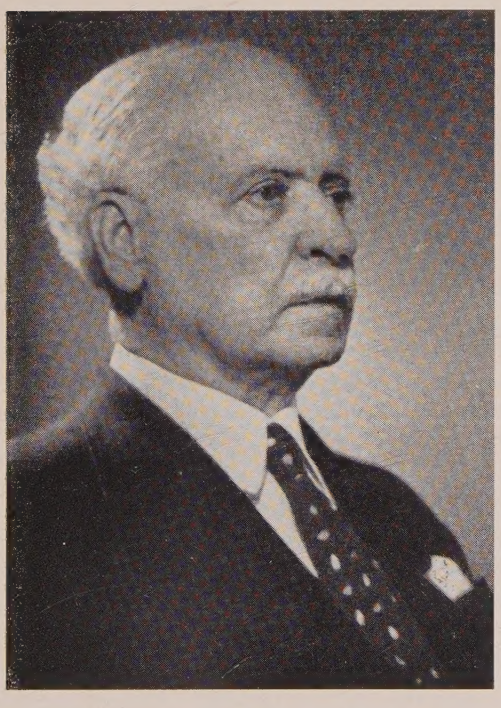
Recebido para publicação em 29 dezembro 1960.

Necrológio

PROF. M. A. PIRAJÁ DA SILVA

(1873-1961)

No dia 1.º de março do corrente milésimo, na cidade de São Paulo, com pouco mais de 88 anos de idade, finou-se plàcidamente uma das mais fecundas existências que já contemplaram os céus de nossa Pátria: o Prof. Manuel Augusto Pirajá da Silva.



Prof. Pirajá da Silva.

Nascido na Bahia, na vetusta cidade de Camamu, a 28 de janeiro de 1873, viveu os primeiros anos rodeado dos esplendores da natureza que se ostentam nas cercanias da maravilhosa baía daquele nome. Feitos os estudos primários na terra natal, transferiu-se para a capital do Estado, a histórica Cidade do Salvador, onde completou sua formação humanística em tradicionais colégios da época, ingressando em seguida na gloriosa Faculdade de Medicina da Bahia, que cursou de 1891 a 1896, doutorando-se nesta última data, após defesa de brilhante tese, intitulada "Contribuição para o estudo de uma moléstia que aqui tem reinado com os caracteres da meningite cérebro-espinhal epidêmica". Estavam definidos os pendores que nortearíam sua vida no rumo das mais altas conquistas no terreno da nosologia tropical.

Interno da 1.ª Cadeira de Clínica Médica, regida pelo seu padrinho de batismo, o Prof. Ramiro Monteiro, investidura que exerceu durante os dois derradeiros anos acadêmicos, passou a praticar a profissão no interior, logo após a diplomação. Nomeado em 1902 para o cargo de assistente daquela Cátedra, já então sob a regência do Prof. Anísio Circundes de Carvalho, ingressou brilhantemente no magistério. Estimulado por êsse mestre, dedicou-se de corpo e alma ao estudo das doenças dos países quentes, não tardando em efetuar as mais valiosas e eficientes pesquisas nesse campo. Depois de haver confirmado, em 1907, na Bahia, à luz do microscópio, a sensacional descoberta de Schaudinn e Hoffmann, praticada em 1905 na Alemanha, com a descrição do agente etiológico da sífilis, o *Treponema pallidum*, teve oportunidade Pirajá da Silva, nos anos de 1908 e 1909, de realizar estudos que vieram a imortalizá-lo perante o mundo científico, mediante a descoberta e identificação zoológica do *Schistosoma mansoni*, ocorridas também na Bahia, feito extraordinário sob todos os aspectos, reconhecido atualmente *urbi et orbi*. Com efeito, naquela quadra os mais conspícuos tropicalistas do mundo, Patrick Manson de um lado e Arthur Looss

do outro, se digladiavam sem chegar a resultado positivo, ao divergirem quanto à unicidade ou dualidade dos esquistossomos dotados de ovos espiculados, produtores de doenças humanas. Foi Pirajá da Silva o árbitro supremo dessa pendência, ao lançar ao mundo, simultâneamente pelas colunas do "Brasil-Médico", do Rio de Janeiro, do "The Journal of Tropical Medicine and Hygiene", de Londres, e dos "Archives de Parasitologie", de Paris, a descrição exata do parasito pomo de discórdia, por êle encontrado pela primeira vez no Brasil. Sem nunca ter tido até então mestres especializados na matéria, veio a realizar obra digna dos maiores parasitologistas de todos os tempos. Não ficou, porém, apenas no estudo da esquistossomose. Prosseguiu desvendando outros problemas ligados a moléstias parasitárias aqui existentes, entre as quais a leishmaniose tegumentar, a doença de Chagas, as miíases, as micoses, o ainhum. Descreveu, em 1912, a cercária do *S. mansoni*, três anos antes de Leiper, no Egito, fechar o ciclo evolutivo dêsse parasito.

Nomeado em 1911 Catedrático de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Bahia, disciplina então criada para galardoar-lhe os méritos excepcionais, lecionou essa matéria até o ano de 1935, quando se aposentou, vindo residir em São Paulo, onde passou a colaborar cientìficamente no Instituto Butantã. Foi também Catedrático de História Natural no Ginásio da Bahia, de 1914 a 1933.

Ao lado das pesquisas no campo da Medicina Tropical, dedicou-se Pirajá da Silva ao estudo da História do Brasil com o ardor de um apaixonado. Traduziu e anotou a magistral obra de Spix e Martius, "Reise in Brasilien", na parte tocante à Bahia, em 1916, apresentando êsse trabalho ao V Congresso Brasileiro de Geografia, reunido na Cidade do Salvador naquele milésimo. Realizou tarefa idêntica, anos mais tarde, com outro livro, inteiramente desconhecido, do sábio bávaro, que veio a intitular-se em português "Natureza, doenças, medicina e remédios dos índios brasileiros", incorporado à série "Brasiliana" da Editôra Nacional, sob o n.º 154, no ano de 1939. Coroou seus esforços como historiador, realizando a ciclópica iniciativa de anotar a obra quinhentista de Gabriel Soares, a monumental "Notícia do Brasil". Verdadeiro canto de cisne, que se prolongou durante três lustros, saiu do prelo êste monumento de saber em 1945, em dois alentados tomos, sob o n.º XVI da "Biblioteca Histórica Brasileira", da Editôra Martins. As anotações de Pirajá da Silva superaram de muito, em extensão e profundidade, a obra do notável cronista do século XVI. A doença impediu-o de continuar no desempenho de tão altruísticas missões culturais, privando-o de dois preciosos dons: a visão e a memória.

Galardões os mais expressivos e cobiçados exornaram a fronte olímpica dêsse grande sábio. Em 1911, conquistou a medalha de ouro, com o título de *major*, do Instituto de Medicina Colonial de Paris. Em 1954, outorgou-lhe o "Tropeninstitut" de Hamburgo, por voto unânime de seus pares, a sua mais elevada condecoração científica, a Medalha Bernhard Nocht, como reconhecimento ao valor de seus estudos sôbre esquistossomose. O Govêrno Brasileiro, em atenção a seus incontestáveis méritos, agraciou-o com a Grã Cruz da Ordem Nacional do Mérito Médico, em 1956. Pertenceu às mais colendas corporações científicas nacionais e estrangeiras. Sua vida e sua obra foram por mim enfeixadas em 3 volumes, num total de 700 páginas. Ao comemorar-se o cinqüentenário de sua notável descoberta (identificação do *S. mansoni*) em 1958; criou-se uma medalha cultural em sua honra, oficializada pelo Ministério da Saúde do Brasil. Foi também emitido, pelo Departamento de Correios e Telégrafos, um sêlo postal comemorativo, com a sua efígie, o qual entrou em circulação em 1959.

Consorciado, durante mais de sessenta anos, com a sua prima, a veneranda D.ª Elisa Rocha Pirajá da Silva, sua grande companheira e colaboradora anônima, deixou dois filhos: Regina e Paulo Pirajá da Silva, dignos herdeiros e continuadores das virtudes paternas, na cidade de São Paulo.

Modesto, sábio e eminentemente trabalhador, Pirajá da Silva honrou o Brasil e a Humanidade, como os que mais o fizeram até hoje.

EDGARD DE CERQUEIRA FALCÃO

Noticiário

HOMENAGEM À MEMÓRIA DE GASPAR VIANNA NO CINQÜENTENÁRIO DA DESCOBERTA DO TRATAMENTO DAS LEISHMANIOSES POR GASPAR VIANNA

Aproveitando a data do cinqüentenário da descoberta do tratamento das leishmanioses em abril de 1962, homenagens de âmbito nacional e internacional deverão ser tributadas à memória de Gaspar Vianna, o grande pesquisador brasileiro que, não obstante sua morte prematura aos 29 anos de idade, contribuiu decisivamente para o progresso da Medicina Tropical. Alguns de seus trabalhos científicos, como "o estudo da anatomia patológica da doença de Chagas", são hoje clássicos e sua descoberta do tratamento das leishmanioses pelos antimonais conferiu-lhe um lugar entre os legítimos benfeitores da humanidade. Seus dados biográficos foram publicados no volume 2, número 4 desta Revista.

As homenagens planejadas até o presente constarão de: reimpressão facsimilar das obras completas do cientista; edição de um número especial da Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo com colaboração internacional, emissão de um sêlo postal comemorativo, além de exposições e outras solenidades a serem realizadas em Belém, Recife, Cidade do Salvador, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo e outros centros médicos do país.

A coordenação das comemorações está a cargo de uma Comissão Executiva, composta dos Prof. Samuel B. Pessôa (presidente) e Drs. Leonidas M. Deane (vice-presidente), Edgard Cerqueira Falcão (1.º secretário), Carlos H. Liberalli (2.º secretário) e Luís Rey (tesoureiro); seus trabalhos têm como sede o Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Caixa Postal 2921, São Paulo.

II CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Realizou-se entre 2 de janeiro e 31 de março do corrente ano, o segundo curso de medicina tropical promovido pelo Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Contou o referido curso com a participação de 23 alunos procedentes de diversos Estados brasileiros e do exterior.

Diplomaram-se, ao término do curso, os seguintes médicos:

Dr. Antonio Antunes Planella (Rio Grande do Sul)

Dra. Deria Horie (São Paulo)

Dra. Dinah Borges de Almeida (São Paulo)

Dr. Edelweiss Teixeira da Silva (Minas Gerais)

Dr. Fernando Januário Pinto (São Paulo)

Dr. Fidias Muci Mendoza (Venezuela)

Dra. Geni Maria Martino Coronel (São Paulo)

Dr. Henrique Elkis (São Paulo)

Dr. Joel Salazar Hidalgo (Venezuela)

Dr. José Fernando Montenegro Figueiredo (Bahia)

Dr. José Landucci Brunini (São Paulo)

Dra. Leila Uafae (São Paulo)

Dr. Luiz Carlos de Brito Lyra (Rio de Janeiro)

Dr. Manoel Antonio Vásquez Bernal (Panamá)

Dr. Manuel Luiz T. de Moraes (Rio Grande do Sul)

Dr. Maurício Mota Avelar Alchorne (Pernambuco)

Dr. Nelson Rangel (Espírito Santo)

Dr. Olindo Adrian Luís Martino (Argentina)

Dra. Ondina Botelho do Nascimento Filha (São Paulo)

Dr. Rubens Valeriano Furtado Fabricio da Silva (Rio Grande do Sul)

Dr. Ruy Machado da Silva (Bahia)

Dr. Toshimi Minami (São Paulo)

Ao Dr. Olindo Adrian Luís Martino coube o prêmio (medalha de ouro) conferido ao melhor aluno do curso.

CÁTEDRA DE DERMATOLOGIA

Realizou-se no período de 28 de novembro a 2 de dezembro de 1960, o concurso para provimento da Cadeira de Clínica Dermatológica e Sifiligráfica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Após o término das provas, a banca examinadora, composta pelos Profs. J. Alves Meira, C. da Silva Lacaz, J. Ramos e Silva, O. Orsini e C. Bopp, aprovou (com distinção) e indicou para a cátedra da referida Clínica, o Dr. Sebastião de Almeida Prado Sampaio.

O novo Catedrático da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo apresentou tese sôbre o "Tratamento da Blastomicose Sul-Americana com Anfotericina B".

ERRATA

Por ter saído com incorreção, publicamos novamente o título do trabalho constante do vol. 2, n.º 3, págs. 131-139 de maio-junho de 1960:

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
2(3):131-139, maio-junho 1960

ESTUDOS SÔBRE AS ESTAFILOCOCCIAS

II — Incidência de portadores entre crianças hospitalizadas; antibiograma e fagotipagem das amostras obtidas de colheitas semanais

Eduardo Marcondes Machado [1], C. Solé-Vernin [2], Cecilia Mattos Ulson [3], Fernando Proença Gouveia [4], José Augusto Nigro Conceição [5], Hebe da Silva Coelho [1], Francisco de Paula Neves Filho [1] e J. Aleixo da Silva [1]